

Mitochondriale Transmissionsgenetik
bei der Spaltheefe
Schizosaccharomyces pombe

Gudrun Lückemann

1981
—

Mitochondriale Transmissionsgenetik
bei der Spaltheefe
Schizosaccharomyces pombe

Dissertation
der Fakultät für Biologie
der Ludwig - Maximilians - Universität München

vorgelegt von
Gudrun Lückemann
aus Weng

März 1981



1. Berichterstatter: Prof. Dr. F. Kaudewitz
2. Berichterstatter: Dr. K. Wolf

Tag der mündlichen Prüfung: 26. März 1981

DISSERTATIONS - UND FOTODRUCK FRANK GmbH
8000 München 2, Gabelsbergerstraße 15, Tel. 2809090

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
EINLEITUNG	1
NOMENKLATUR UND ABKÜRZUNGEN	5
MEDIEN	6
STÄMME	7
METHODEN	12

ERGEBNISSE

I. Mitochondriale Mutanten, Kriterien mitochondrialer Vererbung, Kreuzungsanalysen mitochondrialer Mutanten

1. Lebenszyklus der Spaltheefe <i>Schizosaccharomyces pombe</i>	16
2. Mitochondriale Mutanten	16
3. Mitotische Segregation	19
4. Tetradenanalyse	21
5. Mitotische Haploidisierung	22
6. Beeinflussbarkeit der Transmission mitochondrialer Marker durch Ethidiumbromid	25
7. Kovarianz der Transmission	28
8. Chloramphenicol-Besonderheiten	29
9. cis-trans-Abhängigkeit in mitochondrialen Kreuzungen	32
10. Mitochondriale Kreuzungen durch Fusion von Protoplasten	37
11. Beweis für die Lokalisation der Mutationsorte auf der mitochondrialen DNS	40
Zusammenfassung	42
Figuren und Tabellen	43

II. Das Bakteriophagenmodell mitochondrialer Kreuzungen und seine Einschränkungen

1. Bakteriophagenkreuzungen - mitochondriale Kreuzungen	99
---	----

	Seite
2. Abhängigkeit der Rekombinationsfrequenz von der Transmission nach Ethidiumbromid- Behandlung der Kreuzungspartner	102
3. Transmission mitochondrialer Marker in Zygotenklonen	104
4. Uniparentale Vererbung	106
5. Rekombination mitochondrialer Marker in Zygotenklonen	108
6. Beeinflussung der Rekombinationshäufigkeit durch Abschaltung der mitochondrialen Proteinsynthese	111
Zusammenfassung	113
Figuren und Tabellen	114
III. Segregation mitochondrialer Genome	
1. Segregation ohne Zellteilung	153
2. Segregation bei Zellteilung: Dauer des heteroplasmischen Zustands	161
3. Segregation in Sporenklonen	167
Zusammenfassung	173
Figuren und Tabellen	174
DISKUSSION	268
- Mitochondriale Mutanten, Kriterien mitochon- drialer Vererbung, Kreuzungsanalysen mitochon- drialer Mutanten	269
- Das Bakteriophagenmodell mitochondrialer Kreu- zungen und seine Einschränkungen	272
- Segregation mitochondrialer Genome	275
LITERATURVERZEICHNIS	288

EINLEITUNG

Die Erbinformation einer eukaryotischen Zelle ist in den Genomen des Kerns, der Mitochondrien, bei grünen Pflanzen auch in den Chloroplasten, und in der DNS von Plasmiden niedergelegt. Die Weitergabe der genetischen Information auf die Tochterzellen erfolgt bei den einzelnen Genomen auf unterschiedliche Weise. Die Chromosomen, die entweder haploid oder diploid im Zellkern vorliegen, werden durch Mitose und Meiose auf die Tochterzellen verteilt. Die Neukombination "väterlicher" und "mütterlicher" Chromosomen, sowie die Rekombination zwischen homologen Chromosomen geschieht in der Meiose. In der Mitose findet ebenfalls in geringem Umfang Rekombination statt. Jedes Kernchromosom wird im Laufe des Zellzyklus nur ein einziges Mal verdoppelt und ein Rekombinationsereignis kommt an einer bestimmten Stelle der gepaarten Chromosomen nur einmal pro Zellzyklus vor. Allele des Kerngenoms in heterozygoten Diploiden verhalten sich entweder dominant oder rezessiv, wobei fließende Übergänge möglich sind.

Die Genome der Mitochondrien und Chloroplasten bestehen aus vielen identischen Kopien; sie sind somit hoch polyploid. Auch Plasmide liegen in der Zelle in Vielzahl vor. Organellgenome unterliegen nicht einem der Mitose oder Meiose vergleichbaren strengen Verteilungsmodus, jedoch ist durch die Wirkung verschiedener Kerngene sichergestellt, daß sich in jeder Zelle etwa gleich viele Organell-DNS-Moleküle befinden. Die Unterschiede zwischen chromosomaler und extrachromosomaler Vererbung sollen kurz an dem derzeit best untersuchten System, den Mitochondrien der Bäckerhefe Saccharomyces cerevisiae (S.cer.), erläutert werden:

Jede Hefezelle enthält etwa 1-20 Mitochondrien, die Zahl der mitochondrialen Genome beträgt etwa 50-100 pro Zelle. Sie werden im Gegensatz zu den Chromosomen des Kerns kontinuierlich während des Zellzyklus repliziert. Vereinigen sich zwei haploide Zellen zu einer Zygote, so verschmelzen die Mitochondrien beider Partner und die Genome können miteinander rekombinieren. Im Gegensatz zu den Chromosomen des Kerns findet hier Paarung und Rekombination nicht nur zwischen den mitochondrialen Molekülen verschiedener Eltern statt, sondern auch zwischen Molekülen desselben Kreuzungspartners. Es ist jedoch ein Kennzeichen aller bisher untersuchten Organellgenome, daß - bis auf seltene Ausnahmen von sog. "persistent heterozygotes" (Treat, 1978) - der heteroplasmische Zustand nicht über lange Zeit aufrecht erhalten wird. Parentale und rekombinante Moleküle entmischen sich. Dieser Vorgang ist in den meisten Zellen nach etwa 10-20 Generationen abgeschlossen.

Während Kerngene nur im Verlauf der Meiose entsprechend der Mendel'schen Regeln "segregieren", erfolgt die Segregation - definiert als Verteilung von Allelen aus einer heterozygoten Zelle auf verschiedene Tochterzellen (Birky, 1978) - mitochondrialer Gene während der aufeinanderfolgenden mitotischen Zellteilungen. Die Zelle kann analog einer phageninfizierter Bakterienzelle betrachtet werden: als eine Population von DNS-Molekülen, die einen panmiktischen Pool bilden, in dem sie frei untereinander paaren und rekombinieren können (Visconti und Delbrück, 1953; Dujon et al., 1974). Während bei der chromosomalen Genetik immer nur die beiden homologen Chromosomen miteinander in Berührung treten, handelt es sich bei der Organellgenetik um den freien Austausch von Genen zwischen zwei Populationen von Molekülen. Organell-

genetik ist also "Intrazelluläre Populationsgenetik" (Birky, 1978).

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die Vorgänge der Weitergabe (Transmission), der Segregation und Rekombination mitochondrialer Genome an einem möglichst einfachen System zu analysieren. Für die im folgenden gezeigten Untersuchungen wurde die Spalthefe Schizosaccharomyces pombe (Sch.pombe) gewählt. Sie bietet den besonderen Vorteil der Zellvermehrung durch regelmäßige Querteilung, ähnlich dem Darmbakterium *Escherichia coli*. Dabei entspricht jede Zellspaltung einer Generation, im Gegensatz zur sprossenden Bäckerhefe, bei der sich mehrere Knospen an einer Zelle parallel bilden und sich somit Zellteilung und Generation nicht korrelieren lassen.

Im Gegensatz zu *S.cer.* sind die genetischen Systeme des Kerns und der Mitochondrien bei der Spalthefe *Sch.pombe* stärker gekoppelt. Das zeigt sich in folgenden Eigenschaften:

- i) Für *Sch.pombe* als petite-negative Hefe (Bulder, 1964) sind auch unter Gärungsbedingungen ihre mitochondriale DNS (mtDNS) und ihre mitochondriale Proteinsynthese unverzichtbarer Zellbestandteil. Große Deletionen in der mtDNS oder der Verlust des gesamten Genoms scheint für den Organismus letal zu sein: Es treten keine ρ^- oder ρ^0 -Mutanten auf.
- ii) Die Replikation der mtDNS verläuft diskontinuierlich (DeI Giudice et al., im Druck).
- iii) Blockierung der cytoplasmatischen Proteinsynthese verursacht sofort den Ausfall von Kern-DNS-und

Mitochondrien-DNS-Synthese (Grossman et al., 1969), während letztere bei *S.cer.* unter gleichen Bedingungen noch für Stunden weitergeht (Del Giudice und Wolf, 1980; Del Giudice et al., im Druck).

Sch.pombe ist ein kerngenetisch gut untersuchter Organismus (Kohli, 1976). Neuere Ergebnisse kennzeichnen auch das mitochondriale Genom näher: mitochondriale DNS-Moleküle haben eine Länge von $6\text{ }\mu\text{m}$, was 19 Kilobasenpaaren entspricht; ihre Anzahl ist 50-100 pro Zelle. Restriktionskartierung zeigt, daß der Wegfall von DNS-Stücken mit Ausfällen von Cytochromen der Atmungskette gute Übereinstimmung zeigt. Ebenfalls korreliert scheinbar Deletionen in der mtDNS mit extrakaryotisch vererbten Resistenzen gegen Antibiotika zu sein (Lang, pers. Mitteilung; Anziano et al., in Vorbereitung).

Die vorliegende Arbeit gliedert sich in folgende drei Problemkreise aus der Transmissionsgenetik der Mitochondrien:

- 1.) mitochondriale Mutanten, Kriterien mitochondrialer Vererbung, Kreuzungsanalysen mitochondrialer Mutanten,
- 2.) Analogie mitochondrialer Kreuzungen zu Bakteriophagenkreuzungen, das Dujon-Modell und seine Einschränkungen,
- 3.) Analyse des Segregationsmechanismus mitochondrialer Gene.

NOMENKLATUR UND ABKÜRZUNGEN

	mitochondrial vererbte Resistenz bzw. Sensitivität gegen
ana ^{r/s} = A ^{R/S}	Antimycin
diu ^{r/s} = D ^{R/S}	3(3,4-Dichlorphenyl 1)-1,1-Dimethyl- harnstoff = Diuron = DCMU
ery ^{r/s} = E ^{R/S}	Erythromycin
cap ^{r/s} = C ^{R/S}	Chloramphenicol
neo ^{r/s} = N ^{R/S}	Neomycin
	Auxotrophie für die Aminosäure... im Locus.. / Wildtypallel
ade7/ADE7	Adenin
ura1/URA1	Uracil
arg1/ARG1	Arginin
lys4/LYS4	Lysin
leu1/LEU1	Leucin
h ^{-/+} /90	Paarungstypallele
mei1	sporulationsdefekt durch Mutation im Paarungstyplocus
P	Parentaltyp
R	Rekombinantentyp
BP	biparental
UPR	uniparental resistent
UPS	uniparental sensibel
$\bar{x}$	Mittelwert
V	Varianz

Die in dieser Arbeit beschriebenen Kreuzungen werden meist so abgekürzt, daß nur der in diesem Zusammenhang wichtige Genotyp deutlich wird, z.B.

diu^r-301 ade7-50h⁻ x ery^r-114 mei1-102 lys4-95 als
diu^r-301h⁻ade⁻ x ery^r-114 mei1 lys⁻ oder D^Rh⁻ x E^Rmei1

MEDIEN

Hefeextrakt-Glucose- bzw. Glycerin-Vollmedium (Glu oder U bzw. Gly oder Y)	: Leupold, 1970
Edinburgh-Minimalmedium (EMM)	: Mitchison, 1970
Sporulationsmedien:	
Malzextrakt-Medium	: Leupold, 1970
Synthetisches Sporulationsmedium (SPA)	: Munz und Leupold, 1970
Haploldisierungsmedium	: Kohli, 1976

Antibiotika-Konzentrationen:

Antimycin	1mg/l	)	
Diuron	10mg/l	)	gelöst in absolutem
Erythromycin	4g/l	)	Alkohol
Chloramphenicol	2g/l	)	
Neomycin	1,5g/l	)	gelöst in sterilem Wasser

werden dem auf ca. 40°C abgekühlten, autoklavierten Glycerinmedium zugegeben.

Die Antibiotika-Medien werden abgekürzt als Gly+A, Gly+D, Gly+E, Gly+C und Gly+N.

Gly+E und Gly+C sind 0,05M an Phosphatpuffer (0,5M, pH6,2)

Phloxin B 20mg/l

wird in sterilem Wasser gelöst dem auf ca. 40°C abgekühlten, autoklavierten Medium zugegeben zur Unterscheidung zwischen haploiden (bleiben hell) und diploiden (färben sich rot an) Kolonien.

CHEMIKALIEN

DL-p-Fluorphenylalanin (pFPA)	: Serva, Heidelberg
2,7-Diamino-10-äthyl-9-phenyl-phenanthrididumbromid = = Ethidumbromid (EB)	: Serva, Heidelberg
Manganchlorid (MnCl ₂)	: Merck, Darmstadt

STÄMME

972h⁻
 975h⁺ U.Leupold, Bern
 ura1-171h⁺
 ade7-50h⁻
 his2-245h⁻ U.Leupold, Bern
 lys4-95h⁺
 leu1-32h⁻, h⁺
 mei1-102 ura1-171 arg1-1
 mei1-140 leu1-32
 R.Egel, Kopenhagen
 diu^Sery^Smei1-102 arg1-1
 aus Kreuzung diu^r-301 ery^r-120 ade7-50h⁻ x
 x mei1-102 ura1-171 arg1-1 und anschlies-
 sender Haploidisierung
 ana^r-14 ade7-50h⁻
 Mutante aus Stamm ade7-50h⁻, induziert
 mit NG (Lang et al., 1975)

D^R-Stämme

diu^r-301 ade7-50h⁻
 spontane Mutante aus Stamm ade7-50h⁻
 (Wolf und Kaudewitz, 1977)
 diu^r-301 ura1-171h⁺
 aus: diu^r-301 ade7-50h⁻ x ura1-171h⁺
 diu^r-72 mei1-140 leu1-32
 aus: diu^r-301 ade7-50h⁻ x mei1-140 leu1-32
 diu^r-122 mei1-102 arg1-1
 aus: diu^r-301 ery^r-122 ade7-50h⁻ x
 x mei1-102 ura1-171 arg1-1
 diu^rMn2-5, 1, mei1-140 leu1-32
 ⋮
 12
 Manganinduktion in diu^r-301 ade7-50h⁻ x
 x mei1-140 leu1-32
 diu^rMn1-1, 3, mei1-140 leu1-32
 4
 Manganinduktion in diu^r-301 ade7-50h⁻ x
 mei1-140 leu1-32

E^R-Stämme

ery^r-110 lys4-95h⁻
 -120
 -128
 -130

Sporen aus Kreuzungen: diu^r-301 ery^r-100
 (120,128,130) ade7-50h⁻ x lys4-95h⁻

ery^r-102, 1, mel1-140 leu1-32

⋮

4

aus: diu^r-301 ery^r-102 ade7-50h⁻ x
 x mel1-140 leu1-32

ery^r-114 mel1-102 lys4-95

Spore aus den Kreuzungen: diu^r-301 ery^r-
 114 ade7-50h x lys4-95h⁺, ery^r-114 lys4-
 95h x mel1-102 ura1-171 arg1-1

ery^r-16-128 ana^s-8 mel1-102 ura1-171

G.Seltz-Mayr, Dissertation

ery^r-100 mel1-102 ade7-50

ery^r-100, 1, mel1-102 arg1-1

2

ery^r-100 mel1-102 ura1-171

ery^r-108 mel1-102 arg1-1

ery^r-120, 1, mel1-102 ura1-171

2

ery^r-120, 1, mel1-102 arg1-1

⋮

4

aus: diu^r-301 ery^r-100 (108,120) ade7-50h⁻
 x mel1-102 ura1-171 arg1-1

C^R-Stämme

cap^r1-3 ade7-50h⁻

5-1

6-1

spontan aus diu^r-301 ade7-50h⁻

cap^rMn1-2, 1, ade7-50h⁻

⋮

12

Manganinduktion in diu^r-301 ade7-50h⁻ x
 x mel1-140 leu1-32

cap^rMn1-2, 1, leu1-32h⁻

⋮
4

Manganinduktion in diu^r-301 ade7-50h⁻ x
x mei1-140 leu1-32

cap^r-1-3C ana^S-8 mei1-102 arg1-1

G.Seitz-Mayr, Dissertation

cap^r-110 mei1-102 arg1-1

aus: cap^r-110 ade7-50h⁻ x
x mei1-102 ura1-171 arg1-1

cap^r1-3 mei1-140 leu1-32

5-1
5-2
6-1

aus: cap^r1-3 (5-1,5-2,6-1) ade7-50h⁻ x
x mei1-140 leu1-32

cap^rMn1-2, 1, mei1-140 leu1-32

⋮
12

Manganinduktion in diu^r-301 ade7-50h⁻ x
x mei1-140 leu1-32

D^RE^R-Stämme

diu^r-301 ery^r-102 mei1-140 leu1-32

diu^r-301 ery^r-102 mei1-140

spontan aus diu^r-301 ade7-50h⁻ x
x mei1-140 leu1-32

diu^r-301 ery^r-100 ade7-50h⁻

-102
-105
-108

spontan aus diu^r-301 ade7-50h⁻

diu^r-301 ery^r-111 ade7-50h⁻

-115
-120
-125

spontan aus diu^r-301 ade7-50h⁻

D^RC^R-Stämme

diu^r-301 cap^r1-5 ade7-50h⁻
 diu^r-301 cap^r-101 ade7-50h⁻
 -104
 -110
 -111
 -122
 -124
 -125
 -126
 -127
 -132
 -134
 spontan aus diu^r-301 ade7-50h⁻
 diu^r-301 cap^rMn1-1 ade7-50h⁻
 1-2
 2-1,...,9
 Manganinduktion in diu^r-301 ade7-50h⁻
 diu^r-301 cap^r1-1 mei1-140 leu1-32
 aus: diu^r-301 cap^r1-1 ade7-50h⁻ x
 x mei1-140 leu1-32

N^R-Stämme

neo^r-1 ade7-50h⁻
 -2
 -3
 spontan aus ana^r-8 ade7-50h⁻,
 G.Seitz-Mayr, unveröffentlicht
 ana^r-8 neo^r-2,3,4,9,10 ade7-50h⁻
 ana^r-14 afB neo^r-1
 2b neo^r
 3 1a neo^r
 7 a neo^r
 7 b neo^r
 B 3a neo^r
 B 3b neo^r
 B 4a neo^r
 L.Del Giudice, unveröffentlicht

neo^r100-1 ade7-50h⁻

100-6
101-1
101-5
102-2
102-4
103-1
103-3
104-4
105-1
107-6
108-1
108-3
109-1
109-16
110-4
110-10

spontan aus diu^r-301 ade7-50h⁻

ery^r-114 neo^r-1 ade7-50h⁻

-2

spontan aus ery^r-114 mei1-102, dann
Kreuzung mit Stamm ade7-50h⁻

ery^r-114 neo^r-3 mei1-102 lys4-95

-4

-6

spontan aus ery^r-114 mei1-102 lys4-95

ana^r-8 neo^r-A8 ura1-1h⁻

L. Del Giudice, unveröffentlicht

diu^r-301 neo^r101-5 ade7-50h⁻

109-16

1-1

2-1

3-1, 2, 3, 5

5-1

6-1

7-1, 2

9-1, ..., 5

10-1, ..., 5

11-1, ..., 4

spontan aus diu^r-301 ade7-50h⁻

Die Nummern hinter den Resistenzen sind keine Locus-
bezeichnungen, sondern Isolationsnummern. Es kann sich
also um Homo- oder Heteroallele handeln.

METHODEN

1. KONSTRUKTION EINER SPORULATIONSDEFEKTEN, ERYTHROMYCINRESISTENTEN MUTANTE

Glucosevorkulturen

$\text{ery}^{\text{r}}-114 \text{ ade}7-50\text{h}^- \times \text{lys}4-95\text{h}^+$

Je 0,1ml auf Malzagar-Schrägröhrchen nach Abzentrifugieren und 2-maligem Waschen



7 Tage bei 25°C bebrüten

Alkoholabtötung (wie bei FREISPORANALYSE: In 30%igem Alkohol werden die vegetativen Zellen abgetötet, nur die Sporen überleben), verdünnen und auf Erythromycin-Medium ausplattieren

Folgende mögliche Typen entstehen:

$\text{E}^{\text{R}^{\text{h}}^-} \text{ade}^-$ $\text{E}^{\text{R}^{\text{h}}^-} \text{lys}^-$ $\text{E}^{\text{R}^{\text{h}}^+} \text{ade}^-$ $\text{E}^{\text{R}^{\text{h}}^+} \text{lys}^-$
 $\text{E}^{\text{R}^{\text{h}}^-} \text{ade}^- \text{lys}^-$ $\text{E}^{\text{R}^{\text{h}}^+} \text{ade}^- \text{lys}^-$ $\text{E}^{\text{R}^{\text{h}}^+} \text{ADE LYS}$ $\text{E}^{\text{R}^{\text{h}}^+} \text{ADE LYS}$

Isolieren des gesuchten Typs $\text{E}^{\text{R}^{\text{h}}^+} \text{lys}^-$:

Ausstriche auf Glucose-Medium werden gestempelt auf:

- Ma₁z + Adenin + Lysin zur Paarungstypbestimmung (h⁺ gibt positive Jodreaktion mit Testerstamm 972h⁻)
- Gly + E zur Kontrolle der Erythromycinresistenz
- | | | |
|---|--------------|-------------|
| EMM | EMM + Adenin | EMM + Lysin |
| (Ausstriche, die auf EMM und EMM + Adenin nicht, aber auf EMM + Lysin wachsen, haben die gesuchte Lysinauxotrophie) | | |

Wiederholung der Freisporanalyse, jetzt mit der Kreuzung $\text{ery}^{\text{r}}-114 \text{ lys}4-95\text{h}^+ \times \text{mei}1-102 \text{ ura}1-171 \text{ arg}1-1$

Gesucht ist jetzt ein Isolat vom Typ $\text{ery}^{\text{r}}-114 \text{ mei}1-102$, die Auxotrophie kann beliebig sein. Das Isolat muß also Jodpositiv mit Testerstamm 975h⁺ und negativ mit 972h⁻ reagieren, muß auf Gly + E wachsen, darf aber nicht auf EMM Kolonien bilden.

2. FREISPORANALYSE (Leupold, 1970)
3. MITOTISCHE SEGREGATION (Wolf et al., 1976)
4. MITOTISCHE HAPLOIDISIERUNG (Kohli, 1976)
5. PROTOPLASTENFUSION
 - a) ENZYMINDUKTION

Geotrichum candidum = Endomyces lactis (FAMILIE Endomycetaceae, ORDNUNG Endomycetales, STAMM Ascomycetes = Schlauchpilze) kommt in Milch und Fruchtsäften vor, verursacht Fruchtfäule. Durch Hyphenzerfall entstehen Arthrosporen; im Askus bilden sich 1-4 Askosporen.

Trichoderma viride (FAMILIE Hypocreaceae, ORDNUNG Sphaeriales, STAMM Ascomyceten) bildet ein schnellwachsendes Mycel als Saprophyt auf Holz oder anderen verwesenden Pflanzenteilen. Die Fruchtkörper sind Perithezien mit einer von einem Kanal durchbohrten Mündung, die Asci haben eine einfache Membran.

Geotrichum-Kultur in Vollmedium (Glucose)



2Tage schütteln bei 30°C

Kultur filtrieren, Rückstand trocknen, in Minimalmedium ohne Kohlenstoffquelle geben, autoklavieren

Suspension in Petrischalen verteilen, nicht dicker als 3-4mm, mit Trichoderma animpfen



4-5Tage bei 30°C

filtersterilisieren

b) PROTOPLASTENBILDUNG

logarithmische Vorkulturen ($\text{ca. } 10^6$ Zellen/ml) in Vollmedium + 0,05% Deoxyglucose (DG)

↓
1 Stunde bei 30°C
schütteln

abzentrifugieren
+ Trichoderma-Enzym (10ml) + 0,8M MgSO_4 + 0,8M Mannit

↓
10-12 Stunden bei 30°C
inkubieren, gelegentlich
sanft schütteln

↓
Protoplasten abzentrifugieren, 2x waschen in 0,8M Mannit, resuspendieren in 0,8M Mannit

c) FUSION

Protoplasten von 2 Stämmen in 0,8M Mannit mischen, abzentrifugieren, Überstand vorsichtig abnehmen und Pellet mit 3ml 30%igem Polyäthylenglycol (PEG) + 100mM CaCl_2 überschichten

↓
20 Minuten stehen lassen

+ geschmolzener EMM-Softagar (0,5% Agar) + 0,8M Mannit bei 43°C mischen; je 3-4ml auf EMM + 0,8M Mannit-Platten ausgießen

↓
10 Tage bei 30°C

Kolonien = Fusionsprodukte isolieren

zur Reversionskontrolle Protoplasten jedes Stammes getrennt in Weichagar auf EMM-Platten gießen

6. WACHSTUMSKURVEN

Wachstum als Fähigkeit zur Koloniebildung durch Plattieren bestimmt:

Je 5ml Glucose- bzw. Glycerin-Flüssigmedium mit ca. 10^3 Zellen/ml animpfen, bei 30°C am Schüttler bebrüten, zu bestimmten Zeitpunkten Proben entnehmen, entsprechend verdünnen und Einzelkolonien auf Glucose- bzw. Glycerinagar plattieren



3 bzw. 5 Tage bei 30°C

Kolonien auszählen und Titer bestimmen

7. CYTOCHROM-SPEKTREN

Ein Zellrasen des zu untersuchenden Stammes wird auf Malzagar + 2% Hefeextrakt plattiert. Nach 3 Tagen Wachstum werden die Zellen in 50%iger Glycerinlösung suspendiert, mit Dithionit reduziert und in einer Küvette in flüssigem Stickstoff eingefroren.

Die Spektren wurden in einem modifizierten Shimadzu-UV-210A-Spektrometer bei einer Wellenlänge von 620-500nm aufgenommen.

8. BERECHNUNG DER VARIANZEN

Die Varianzen wurden nach der Formel

$$V = \frac{\sum (x - \bar{x})^2}{N-1}$$

mit: x = Wert der einzelnen Stichprobe

N = Anzahl der Stichproben

auf einem MCSI-Dialog-Computersystem der Firma Mini Computer Systems GmbH, München gerechnet.

ERGEBNISSE

I. Mitochondriale Mutanten, Kriterien mitochondrialer Vererbung, Kreuzungsanalysen mitochondrialer Mutanten

1. LEBENSZYKLUS

Die Kriterien mitochondrialer Vererbung lassen sich am einfachsten aus dem in Figur 1 gezeigten Lebenszyklus ableiten.

Sch.pombe ist ein haploider Organismus. Zwei Zellen unterschiedlichen Paarungstyps (h^- , h^+) verschmelzen zu einer Zygote. Das diploide Stadium ist im Normalfall auf die Zygote beschränkt, die sich nach der Meiose in einen Askus mit vier haploiden Askosporen umwandelt. Jede Spore keimt zu einer haploiden Zelle aus und tritt in den vegetativen haplontischen Kreislauf ein.

Durch eine Mutation im Paarungstyplocus (*mei1*) unterbleibt die Reduktionsteilung und der diploide Zustand kann so aufrecht erhalten werden. Eine Zygote, gebildet aus einer Zelle vom h^- -Paarungstyp und einer *mei1*-Mutante, vermehrt sich durch Zellteilungen im diploiden vegetativen Zyklus. Es kann keine Sporulation erfolgen, aber die Haploidisierung kann durch meta- oder para-Fluorophenylalanin (mFPA, pFPA) induziert werden (Mechanismus siehe Punkt 5). Die Zellen verlieren Chromosomen, bis ihr Genom auf den normalen haploiden Satz reduziert ist.

2. MITOCHONDRIALE MUTANTEN

Die in dieser Arbeit beschriebenen Mutanten sind entweder spontan oder nach Induktion mit Manganchlorid ent-

standen. Spontane Mutanten wurden folgendermaßen selektiert: Aus einer stationären Kultur werden etwa $2-4 \times 10^6$ Zellen auf Glycerinagar + Antibiotikum plattiert. Die Petrischalen werden bei 30°C inkubiert, und nach 2-3 Wochen werden die entstandenen Papillen isoliert und zur Reinigung nochmals auf Antibiotikamedium ausgestrichen.

Die Manganinduktion erfolgt in Flüssigmedium (Putrament et al., 1973 und 1975): Glucose-Vollmedium + 5mM Manganchlorid (MnCl_2) wird mit ca. 10^6 Zellen/ml beimpft und bei 30°C am Schüttler bebrütet. Die entstehenden Mutanten werden analog den spontanen selektiert.

Wahrscheinlich induziert Mangan Mutationen durch eine direkte Interaktion mit der Mn^{2+} -sensitiven mtDNS-Polymerase, die von Iwashima und Rabinowitz (1969) beschrieben wurde. Mutationen zur Antibiotikaresistenz resultieren dann aus Mn^{2+} -stimulierten irrtümlichen Basenpaar-substitutionen in der DNS-Replikation. Diese Mutanten entstehen wahrscheinlich in zwei Schritten:

- Ein einziges resistentes mitochondriales (mt) Genom wird produziert.
- Dieses multipliziert sich selektiv innerhalb der Zelle nach Plattieren auf antibiotikahaltiges Medium.
(Putrament et al., 1973 und 1975; Williamson et al., 1977)

Die Mutanten $\text{ana}^r-8 \text{ ade7-50h}^-$, $\text{ana}^r-14 \text{ ade7-50h}^-$ und $\text{diu}^r-301 \text{ ade7-50h}^-$ sind bereits als extrachromosomal beschrieben (Wolf et al., 1976; Seitz et al., 1977; Burger und Wolf, 1981).

Es sollten jedoch noch eine größere Anzahl von Resistenzmutanten gegen verschiedene Antibiotika untersucht werden.

Da die drei oben erwähnten Stämme eine "Mutator"-Mutation in ihrer mtDNS tragen (Wolf et al., Bari-Symposium 1980; G.Seitz-Mayr und K.Wolf, Manuskript in Vorbereitung),

die die Bildung von antibiotikaresistenten Mutanten um einen Faktor von 10^2 - 10^3 gegenüber dem Wildtyp steigert und von atmungsdefekten mitochondrialen Mutanten (bis zu 1%) induziert, gelang es, in $diu^r-301 ade7-50h^-$ für jeden getesteten Resistenzlocus eine große Anzahl von Mutanten zu isolieren, von denen für die nachfolgenden Untersuchungen geeignete Stämme ausgewählt wurden.

Resistenzmutanten gegen folgende Antibiotika mit unterschiedlicher Wirkungsweise wurden isoliert:

ANTIBIOTIKUM	ANGRIFFSPUNKT
Erythromycin (ery) Chloramphenicol (cap)	mitochondriale Proteinsynthese (große Untereinheit der Ribosomen)
Neomycin (neo) Paromomycin (par)	mitochondriale Proteinsynthese (kleine Untereinheit der Ribosomen)
Antimycin (ana) Diuron (diu)	Hemmung der Atmungskette im Komplex III (wahrscheinlich cyt b)

Außerdem entstehen unter Mutatoreinfluß mitochondriale Defektmutanten (mit^-) mit folgendem Phänotyp: Sie sind atmungsdefekt, weisen aber noch mitochondriale Proteinsynthese auf. Sie zeigen Ausfälle in den Cytochromen der Atmungskette oder der ATPase, die teils auf Punktmutationen, teils auf Deletionen zurückzuführen sind.

3. MITOTISCHE SEGREGATION

Alle in dieser Arbeit verwendeten Resistenzmutanten zeigten als erstes wichtiges Kriterium extrachromosomaler Vererbung mitotische Segregation des resistenten bzw. sensiblen Phänotyps:

Sie wurden, um stabile diploide Zellen zu erhalten, mit den sporulationsdefekten Stämmen mei1-102 ura1-171 arg1-1 bzw. mei1-140 leu1-32 gekreuzt, und die entstandenen diploiden Zellen wurden auf Minimalmedium (EMM) + Phloxin selektiert.

Da *Sch.pombe* ein haploider Organismus ist und der diploide Zustand nur erzwungen bestehen kann, erfolgt in den diploiden Zellen spontan die Herabregelung des Chromosomenbestands: Einzelne Chromosomen werden abgestoßen. Erfolgt dies für beide homologen Chromosomen, ist die Zelle nicht mehr lebensfähig. Erst in den toten Zellkörper kann der Farbstoff Phloxin B eindringen. Diploide Kolonien enthalten also mehr abgestorbene Zellen und sehen deshalb auf Phloxinmedium rot gefärbt aus.

Das Kreuzungsgemisch wird in hoher Zelldichte ausplattiert, sodaß ein Rasen entsteht. Dieser wird mit KCl abgeschwemmt, verdünnt und plattiert. Bei der Bildung des Rasens durchlaufen die Zellen etwa 10-20 Generationen, während denen die mitochondrialen Marker segregieren können. Die diploiden Kolonien (Rotfärbung!) werden auf die entsprechenden Antibiotikamedien gestempelt, um die Transmissionshäufigkeit der Resistenzen (E^R , C^R , D^R , A^R bzw. N^R) zu bestimmen. Unter Transmission versteht man hierbei denjenigen Anteil der untersuchten diploiden Kolonien, der einen bestimmten mitochondrialen Phänotyp aufweist. Findet man z.B. nach einer Kreuzung $D^R h^- \times D^S mei1$, daß die Hälfte aller Kolonien auf Diuronmedium wächst, die andere sensibel gegen das Antibiotikum ist,

so beträgt die Transmission des Resistenz- bzw. Sensitivitätsallels je 50%.

Die Aufspaltung unter den diploiden Nachkommen einer Zygote in resistente und sensible Zellen bezeichnet man als mitotische bzw. vegetative Segregation. Im Falle einer dominanten karyotischen Resistenzmutation wäre die gesamte diploide Nachkommenschaft resistent, im Falle einer rezessiven karyotischen Mutation sensibel.

Zwar zeigen alle untersuchten Mutanten mitotische Segregation, jedoch ist die Transmissionsrate der einzelnen Resistenzmarker sehr unterschiedlich: Erythromycinresistenz wird am häufigsten transmittiert (40-60%) (Tab.3), Chloramphenicolresistenz am geringsten (0-13%) (Tab.4); dazwischen liegen die Resistenzen gegen Neomycin (ca.15%) (Tab.5), Antimycin (Tab.1) und Diuron (Tab.2).

Tabelle 6, in der die mittleren Transmissionshäufigkeiten für die verschiedenen Antibiotikaresistenzen nochmals zusammengefaßt sind, macht deutlich, daß die Transmission von Resistenzmarkern locuspezifisch und nicht allelspezifisch ist.

4. TETRADENANALYSE

Bei *S.cer.* ist Tetradenanalyse eine der Standardmethoden in der Mitochondriengenetik: 4:0-bzw. 0:4-Aufspaltung der Marker in den Sporen ist ein Hauptkriterium für extrachromosomalen Erbgang. Dieser Test ist möglich, da bei *S.cer.* die diploide Phase stabil ist, Sporulation dieser Diploiden jedoch jederzeit durch Hungerbedingungen eingeleitet werden kann. Bei *Sch.pombe* dagegen wird die Zygote sofort zum Askus. Deshalb ist die Zeitspanne für eine Durchmischung des Cytoplasmas nur gering. Infolgedessen ist zum Zeitpunkt der Sporulation die Segregation noch nicht abgeschlossen: Nur 2 von 91 geprüften Tetraden waren uniform (Wolf et al., 1978), d.h. alle 4 Sporen waren homoplasmisch für denselben mitochondrialen Genotyp. Die Autoren erhielten in ihren Kreuzungsanalysen, die die Marker *ana*, *cap* und *ery* einschlossen, eine Aufspaltung in alle möglichen Phänotypen:

2R : 2S (R=resistent, S=sensibel)
1R : 3S
3R : 1S
0R : 4S
4R : 0S

Isoliert man Diploide vom Antibiotikamedium, so erhöht sich die Zahl der 4:0-Tetraden. Seltene Tetraden mit 3:1- bzw. 1:3-Aufspaltung zeigen, daß der heteroplasmatische Zustand in manchen Zellen auch nach Wachstum auf dem Selektivmedium andauert.

Auf Tetradenanalyse wurde in der vorliegenden Arbeit verzichtet: Bei *Sch.pombe* sind Tetradenanalysen als Routine-test für mitochondriale Mutanten nicht brauchbar, da durch die erzwungene Diploidisierung mit meist die Diploide nicht mehr zur Sporulation befähigt ist.

Als Alternative wurde die Induktion zur Haploidisierung mit meta- oder para-Fluorophenylalanin (mFPA, pFPA) eingesetzt.

5. MITOTISCHE HAPLOIDISIERUNG

Ursprünglich wurde die Methode der pFPA-induzierten Haploidisierung für Organismen ohne sexuellen Lebenszyklus entwickelt, z.B. für *Aspergillus nidulans* (Käfer, 1961; Shanfield und Käfer, 1971).

pFPA löst wahrscheinlich in Diploiden Chromosomenfehlverteilungen (Non-Disjunction) und anschließendes spontanes Herabregulieren der aneuploiden Chromosomensätze zum haploiden Zustand aus. Die Prozedur ergibt eine Häufigkeit an haploiden Segreganden zwischen 30% und nahezu 100% und wird folgendermaßen durchgeführt

(Kohl, 1976): Eine diploide Kolonie wird auf Haploidisierungsmedium ausgestrichen und für 5 Tage bei 30°C inkubiert. Dieses Medium besteht aus Minimalagar, supplementiert mit allen nötigen Wachstumsfaktoren und 0,05% pFPA oder mFPA. Geeignete Verdünnungen der Kultur werden auf Glucose-Vollmedium + Phloxin ausplattiert, wo man durch die unterschiedliche Phloxinfärbung der Kolonien haploide Segreganden von diploiden Zellklonen unterscheiden kann. Haploide Kolonien werden isoliert und in der Folge nach ihrem Genotyp klassifiziert. Durch Induktion der Haploidisierung können normalerweise sämtliche Typen von haploiden Segreganden erhalten und analysiert werden.

Die mitotische Haploidisierung beruht auf zwei Grundlagen:

- i) Diploide Klone, isoliert vom Selektivmedium, sind meist homoplasmisch. Liegt ein extrachromosomaler Erbgang vor, sollten alle haploiden Segreganden wie alle Meioseprodukte (Sporen in der Tetradenanalyse) von einheitlichem Phänotyp sein, d.h. aus resistenten Diploiden sollten nur resistente Haploide und aus sensiblen Diploiden nur sensible Haploide segregieren. Ist die untersuchte Mutation dagegen kernkodiert, müßte unter der haploiden Nachkommenschaft der Zygote eine Markeraufspaltung stattfinden, d.h. in unserem Fall müßten ca. 50% der untersuchten Kolonien resistent und ca. 50% sensitiv gegen Antibiotika sein.
- ii) Da bei der Haploidisierung jeweils ganze Chromosomen abgestoßen werden bzw. zurückbleiben, segregieren auf demselben Chromosom gelegene Marker - bis auf seltene Ausnahmen mitotischer Rekombination - gemeinsam. Liegen die geprüften Antibiotikaresistenzen auf der Mitochondrien-DNS und nicht auf einem der 3 Kernchromosomen, sollten sie keine Kopplung zu den ebenfalls geprüften Auxotrophien der Mutantenstämme zeigen.

Für drei dieser Mutanten (ery^r-128 $lys4-95h^-$, cap^r6-1 $ade7-50h^-$, neo^r-1 $ade7-50h^-$) wurde als weiterer Nachweis mitochondrialer Vererbung durch pFPA induzierte Haploidisierung herangezogen,

Die mitotische Haploidisierung von sensiblen Diploiden ergab ausschließlich sensible haploide Segreganden, während aus einigen resistenten Diploiden (isoliert vom selektiven antibiotikahaltigen Medium) ein geringer Prozentsatz (0,3-0,8%) sensibler Haploider heraussegregierte

(Tab.7a). Die Entmischung von Resistenz- und Sensitivitätsdeterminanten ist nach ca. 20 Generationen diploiden Wachstums und etwa 4-5 Zellteilungen auf Haploidisierungsmedium noch nicht vollständig abgeschlossen. Die drei Auxotrophiemarker pro Kreuzung treten in fast allen möglichen Kombinationen auf. Ausnahmen, wie 100% Lysinprototrophie in einem sensiblen Segreganden aus der Kreuzung $ery^r-128h^-lys^-$ x $mel1$ und 100%ige argininprototrophe Haploide aus der Kreuzung $neo^r-1h^-ade^-$ x $mel1-102ura^-arg^-$ (Tab.7b), sind durch mitotische Rekombinationsereignisse zu erklären: Die Zygote oder deren diploide Nachkommen werden durch eine Genkonversion für einen Marker homozygot.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse der Haploidisierungsexperimente, daß die Mutationsorte für die Resistenzen der drei Mutanten nicht auf einem der drei bekannten Chromosomen liegen.

6. BEEINFLUSSBARKEIT DER TRANSMISSION MITOCHONDRIALER MARKER DURCH ETHIDIUMBROMID (EB)

Bei der Bäckerhefe *S.cer.* wurden UV-Bestrahlung, Hydroxyharnstoff (HU), Ethidiumbromid (EB), und Janusgrün (JG) angewandt, um die Transmissionsraten mitochondrialer Marker zu variieren. UV, EB und JG zerstören teilweise mtDNS-Moleküle, HU hemmt die Kern-DNS-Synthese, während die mitochondriale, wenn auch verringert, weiterläuft. Die Fähigkeit des behandelten Partners, seine mitochondrialen Marker nach Kreuzungen den Diploiden zu übermitteln (Transmission), ändert sich. Die Abnahme der Transmissionsfähigkeit ist dosisabhängig, d.h. mit steigender Intensität der UV-Strahlung oder höherer EB-Konzentration nimmt sie stärker ab. Das läßt den Schluß zu, daß ein System aus vielen Kopien - das mitochondriale Genom - getroffen und beeinflußt wird.

Bei *Sch.pombe* haben sich UV, JG und HU zur Transmissionsverschiebung als ungeeignet erwiesen (Hasse, Diplomarbeit 1979); als einziges der getesteten Agenzien beeinflußt EB die Transmissionsrate mitochondrialer Resistenzen signifikant (Wolf und Del Giudice, 1980). Als weitere Wirkungen bei *Sch.pombe* wurde mit zunehmender EB-Konzentration und Einwirkdauer eine Abnahme der Atmung und somit ein *petite*-ähnlicher Phänotyp mit Mikrokoloniebildung beobachtet. Dieser Effekt ist voll reversibel (Schwab et al., 1971). Die Menge und Dichte mtDNS verändert sich allerdings nicht unter EB-Einwirkung (Bandlow und Kaudewitz, 1974). Es ist nicht bekannt, auf welchem Niveau die EB-Wirkung einsetzt. Die Autoren interpretieren ihre Befunde dahingehend, daß EB nicht die mtDNS-Replikation hemmt, sondern eher auf Transkriptions- oder Translationsebene angreift. Bei *S.cer.* sind neben der Replikation auch

Transkription und Translation EB-hemmbar (Fukuhara und Kujawa, 1970; Mahler und Perlman, 1971). Möglicherweise ist ein mitochondriales Translationsprodukt der kritische Faktor, der durch EB beeinflusst wird. Jedenfalls ist die graduelle Transmissionserniedrigung durch EB-Behandlung nur bei einem Vielkopiensystem wie etwa dem mitochondrialen Genom zu erklären.

Um die oft geringe Transmission von Resistenzmarkern (besonders cap^r) zu steigern, wurde zunächst der Einfluß der EB-Behandlung auf die Transmission unterschiedlicher Resistenzmarker geprüft. Jeweils der resistente oder der sensible Kreuzungspartner oder beide wurden in verschiedenen EB-Konzentrationen für 24 Stunden in Glucose-Vollmedium gezüchtet. Die Zellen wurden dann einige Male gewaschen. Anschließend wurden Standardkreuzungen durchgeführt. Unter Standardkreuzung versteht man die Prozedur zur Prüfung mitotischer Segregation in Diploiden. Die Transmission der Resistenzallele wird als Prozentsatz resistenter diploider Kolonien bestimmt.

Eine monofaktorielle Kreuzung $\text{neo}^r\text{h}^- \times \text{neo}^s\text{mei1}$ wurde analysiert nach Behandlung mit 5, 10, 20, 30, 40 und 50 $\mu\text{g/ml}$ EB. Behandelt man den resistenten Partner, ist die geringste Konzentration (5 $\mu\text{g/ml}$) schon voll wirksam: Die Transmission der Neomycinresistenz sinkt von 11% auf praktisch 0. Auch bei EB-Einwirkung auf den sensiblen Partner bringt diese niedrige Konzentration schon die beträchtliche Steigerung von 11 auf 64,5% (Tab.8, Fig.2). Behandelt man beide Stämme, erweist sich der resistente Stamm als empfindlicher gegen den Farbstoff als der sensible: Die Transmissionsraten des Resistenzmarkers sinken ähnlich wie bei alleiniger Behandlung des neo^r -Stammes. Aus diesen beiden Gründen wurde

bei den weiteren Experimenten erstens die gleichzeitige Behandlung beider Partner weggelassen und zweitens zusätzlich noch eine niedrigere EB-Konzentration ($1\text{ }\mu\text{g/ml}$) genommen.

In den beiden Kreuzungen $\text{ery}^{\text{r}}\text{h}^-$ bzw. $\text{ana}^{\text{r}}\text{h}^- \times \text{mei1}$ hatte die geringe Konzentration von $1\text{ }\mu\text{g/ml}$ EB im Medium keine signifikante Transmissionsverschiebung verursacht, und auch in der Kreuzung $\text{cap}^{\text{r}}\text{h}^- \times \text{cap}^{\text{s}}\text{mei1}$ scheint die Transmissionsänderung mit $1\text{ }\mu\text{g/ml}$ EB nicht signifikant (Tab.9, Fig.3). Bei $5\text{ }\mu\text{g/ml}$ Konzentration ist in allen drei Fällen wieder maximale bzw. minimale Transmission des Resistenzmarkers erreicht. Eine nicht zu erklärende Gesetzmäßigkeit ist, daß bei EB-Behandlung des sensitiven mei1 -Stammes mit der höchsten Konzentration ($50\text{ }\mu\text{g/ml}$) die Transmission der Resistenzallele wieder absinkt. Eine Berechnung der Mutungsgrenzen zeigt, daß die Abnahme signifikant ist: E^{R} : von $92,8\% \pm 1,9\%$ auf $86,5 \pm 2,6$; A^{R} : von $94,2\% \pm 1,9\%$ auf $82,1 \pm 2,4$; C^{R} : von $68,0\% \pm 4,2\%$ auf $40,8 \pm 3,4$.

Setzt man $\text{ana}^{\text{r}}-14$ einer EB-Konzentration von $50\text{ }\mu\text{g/ml}$ aus, hemmt die hohe Dosis die Zygotenbildung: Nach Plattieren des Kreuzungsgemisches entstanden keine Kolonien.

7. KOVARIANZ DER TRANSMISSION

Wenn alle untersuchten Antibiotika-Resistenzloci auf demselben Erbträger (der mtDNS) liegen, müßte die Transmission gekoppelter Marker kovariant erfolgen, d.h. in einer Kreuzung $D^R E^R \times D^S E^S$ müßte z.B. bei einer Zunahme von diu^R -Kolonien gleichermaßen der Anteil an ery^R -Kolonien steigen (vgl. Fig.4).

In Figur 4: cis-Konfiguration $D^R E^{Rh-} \times D^S E^{S\text{mei1}}$, in Figuren 5 und 6: trans-Konfiguration $E^{Rh-} \times D^{R\text{mei1}}$ bzw. $D^{Rh-} \times E^{R\text{mei1}}$, in Figur 7 (Symbol $\bullet$): trans-Konfiguration $N^R \times E^R$ wurde der Versuch gemacht, in Standardkreuzungen die Kovarianz der Transmission von Resistenz- bzw. Sensitivitätsallelen zu zeigen. Da in diesen Kreuzungen die Transmissionsfrequenz auf einen relativ engen Bereich beschränkt bleibt, wurde versucht, durch EB-Behandlung eines Partners vor der Zygotenbildung das Transmissionsspektrum zu erweitern. Figur 8 sowie Tabelle 10 zeigen die Transmissionsverschiebung der Resistenzmarker aus Paarungsansätzen der Stämme $neo^R-1 ade7-50h^- \times ery^R-114\text{ mei1-102 lys4-95}$. Die kovariante Transmission gekoppelter Marker in diesen Kreuzungen ist in Figur 7 (Symbol Δ) zusätzlich zu den Werten aus Standardkreuzungen eingetragen. In Figur 9 und Tabelle 11 ist das Ergebnis analoger Experimente aus Paarungen zwischen chloramphenicol- bzw. diuronresistenten Stämmen dargestellt.

8. BESONDERHEITEN DER TRANSMISSION DER CHLORAMPHENICOL-RESISTENZ

Von allen betrachteten Resistenzloci wird das cap^r -Allel mit der geringsten Häufigkeit auf die diploide Nachkommenschaft einer Zygote weitergegeben; C^R -Parental- und/oder -Rekombinantentypen fehlen oft gänzlich. (Auf diesbezügliche Werte in Versuchen zur mitotischen Segregation wird in Punkt 9 näher eingegangen.) Es wurde versucht, den Grund für die extrem niedrige Transmission der Chloramphenicolresistenz zu finden.

Der Verdacht liegt nahe, bei mitochondrialen Mutanten nach veränderten Komponenten der Atmungskette zu suchen. Spektren, die aufgezeichnet wurden, zeigen jedoch keine Veränderungen der Cytochrome gegenüber diu^r -301, deren Spektrum dem des Wildtyps entspricht (Fig.10).

Haben die cap^r -Mutanten einen Wachstumsnachteil gegenüber den sensiblen Wildtypstämmen und gegenüber anderen mitochondrialen Resistenzmutanten? Die Zellvermehrungsgeschwindigkeiten von cap^r - und doppelresistenten diu^rcap^r -Mutanten wurden mit denen der beiden Stämme $\text{ade}7$ -50h⁻ und diu^r -301h⁻ in Glucose- und auch in Glycerin-Vollmedium verglichen. Einige Wachstumskurven - dargestellt als Fähigkeit der Zellen zur Koloniebildung - sind in Fig.11 und Fig.12 wiedergegeben. In Glucose vermehren sich die Stämme mit Chloramphenicolresistenz genau so schnell wie der "Wildtyp"; auch in Glycerinmedium + 0,05% Glucose scheint kein offensichtlicher Wachstumsnachteil zu bestehen - jedenfalls keiner, der mit dieser Versuchsanordnung entdeckt werden könnte. Nur eine Gruppe von Mutanten - stellvertretend für sie ist $\text{cap}^r\text{Mn1-2h}^-\text{ade}^-$ angegeben - hat eine längere Anlaufzeit (lag-Phase), bevor die Zellteilungsaktivität beginnt, holt aber dann

die anderen getesteten Stämme in Vermehrungsgeschwindigkeit und Höhe des Titters ein.

Diese Wachstumskurven wurden folgendermaßen erstellt: Probenentnahmen aus Flüssigkulturen zu verschiedenen Zeitpunkten, Plattieren auf Glucose- bzw. Glycerin-Vollmedium, Auszählen der gewachsenen Kolonien und daraus Titerberechnung. Diese Versuchsanordnung ist natürlich nicht so empfindlich, daß sie erlaubt, Unterschiede in der Generationsdauer aufzudecken, die nur in der Größenordnung von Minuten liegen. Wie würde sich eine geringfügig längere Zellverdopplungszeit auf das Verhältnis der Zellzahlen von C^R - zu C^S -Stamm auswirken?

Dazu wurden einige einfache theoretische Betrachtungen angestellt:

Die Generationsdauer des cap^S -Stammes wird mit 120 Minuten angenommen. Beim Auszählen der Kolonien auf der Petrischale hat eine Zelle ca. 20 Generationen durchlaufen, d.h. eine Kolonie enthält nach genau 20 Generationen Wachstum 1 048 576 Zellen.

Ver mehrt sich der cap^R -Stamm langsamer, so hat er zu diesem Zeitpunkt weniger Zellteilungszyklen durchlaufen; die Kolonie enthält also weniger Zellen. Das sieht dann für eine längere Generationszeit der cap^R -Mutante (122 Minuten) so aus:

Generationsdauer $t=122$ min, dann sind 19,67 Generationen durchlaufen ($G=19,67$), die Anzahl der Zellen beträgt $x=417\ 096$. Das ergibt ein Verhältnis von $C^R:C^S = 1:2,5$.

Einige Werte sind in dieser Übersicht zusammengestellt:

Generationsdauer	Anzahl Generationen	Zellzahl	Verhältnis $C^R : C^S$
$t=120$ min	$G=20$	$x=1\ 048\ 576$	1: 1
$t=122$ min	$G=19,67$	$x= 417\ 096$	1: 2,5

Generations- dauer	Anzahl Generationen	Zellzahl	Verhältnis $C^R : C^S$
t=125 min	G=19,2	x= 301 124	1: 3,5
t=130 min	G=18,46	x= 180 295	1: 5,8
t=135 min	G=17,78	x= 112 533	1: 9,3
t=140 min	G=17,14	x= 72 214	1:14,5
t=145 min	G=16,55	x= 47 975	1:21,9
t=150 min	G=16	x= 32 768	1:32

Das bedeutet: Bei einem Unterschied in der Generationsdauer von nur 5 Minuten, weist nach 20 Generationen Wachstum des schnelleren Stammes dieser schon die 3,5-fache Zellzahl des langsameren auf, bei einer Differenz von einer halben Stunde sogar schon die 32-fache!

Es ist nicht auszuschließen, daß ein geringer Wachstumsnachteil der cap^r -Mutanten oder eine unterschiedliche Vermehrungsgeschwindigkeit der mtDNS-Moleküle zumindest einer der Gründe für die niedrige Transmissionsrate der Chloramphenicolresistenz ist.

9. CIS - TRANS - ABHÄNGIGKEIT IN MITOCHONDRIALEN KREUZUNGEN

Die Transmissionsrate der Resistenzmarker in den Zygoten ist, abhängig vom Antibiotikum, wie schon in Pkt.3 besprochen, sehr unterschiedlich.

Betrachtet man Zwei-Faktor-Kreuzungen, hängt die Transmissionsrate stark davon ab, ob die Resistenzallele in cis- oder trans-Konfiguration vorliegen; im allgemeinen ist sie in cis-Kreuzungen wesentlich niedriger als in monofaktoriellen Kreuzungen.

Hier zunächst eine Zusammenstellung der verschiedenen Typen an Mehrfachkreuzungen, die ausgeführt wurden:

cis-Konfiguration $\begin{matrix} D^R R^h - \\ D^R E^R \text{mei1} \end{matrix} \times \begin{matrix} D^S E^S \text{mei1} \\ D^S E^S h - \end{matrix}$ (Tab.12)

trans $\begin{matrix} D^R E^S h - \\ D^R E^S \text{mei1} \end{matrix} \times \begin{matrix} D^S E^R \text{mei1} \\ D^S E^R h - \end{matrix}$ (Tab.13)

trans $\begin{matrix} D^R C^S h - \\ D^R C^S \text{mei1} \end{matrix} \times \begin{matrix} D^S C^R \text{mei1} \\ D^S C^R h - \end{matrix}$ (Tab.14)

cis $\begin{matrix} D^R C^R h - \\ D^R C^R \text{mei1} \end{matrix} \times \begin{matrix} D^S C^S \text{mei1} \\ D^S C^S h - \end{matrix}$ (Tab.15)

trans $\begin{matrix} N^R E^S h - \\ N^R E^S \text{mei1} \end{matrix} \times \begin{matrix} N^S E^R \text{mei1} \\ N^S E^R h - \end{matrix}$ (Tab.16)

cis $\begin{matrix} N^R E^R h - \\ N^R E^R \text{mei1} \end{matrix} \times \begin{matrix} N^S E^S \text{mei1} \\ N^S E^S h - \end{matrix}$ (Tab.17)

trans $\begin{matrix} N^R D^S h - \\ N^R D^S \text{mei1} \end{matrix} \times \begin{matrix} N^S D^R \text{mei1} \\ N^S D^R h - \end{matrix}$ (Tab.18)

cis $\begin{matrix} N^R D^R h - \\ N^R D^R \text{mei1} \end{matrix} \times \begin{matrix} N^S D^S \text{mei1} \\ N^S D^S h - \end{matrix}$ (Tab.19)

3-Faktor-Kreuz. $\begin{matrix} D^S E^R N^S \text{mei1} \\ D^S E^R N^S h - \\ D^R E^S N^R \text{mei1} \\ D^R E^S N^R h - \end{matrix} \times \begin{matrix} D^R E^S N^R h - \\ D^S E^R N^S \text{mei1} \\ D^S E^R N^S h - \\ D^R E^S N^R \text{mei1} \end{matrix}$ (Tab.20)

$\begin{matrix} A^R N^R h - \\ A^R N^R E^S h - \\ A^R N^R D^S h - \\ A^R N^R D^S E^S h - \end{matrix} \times \begin{matrix} A^S N^S \text{mei1} \\ A^S N^S E^R \text{mei1} \\ A^S N^S D^R \text{mei1} \\ A^S N^S D^R E^R \text{mei1} \end{matrix}$ Ergebnisse nicht gezeigt

Der Mittelwert für $D^R E^R \times D^{S E^S}$ -Kreuzungen (cis-Konfiguration) beträgt 22,1% für die D^R - und 28,3% für die E^R -Transmission (Tab.12a,b).

Höher ist er in trans-Kreuzungen: 39,8% für D^R und 55,5% für E^R in $D^{R h^-} \times E^{R mel1-}$ und 47,4% für D^R und 51,8% für E^R in $D^{R mel1} \times E^{R h^-}$ -Kreuzungen (Tab.13a), was den Transmissionsraten für monofaktorielle Kreuzungen entspricht. In den Tabellen 12c und 13b sind nochmals die mittleren Transmissionswerte mit ihren Standardabweichungen aufgelistet.

Drastisch ist der Unterschied für die Marker D^R und C^R . In trans-Kreuzungen beträgt die durchschnittliche Transmissionsrate 65,6% für D^R und 18,1% für C^R in $D^{R h^-} \times C^{R mel1-}$ und 89,2% für D^R und 4,3% für C^R in $D^{R mel1} \times C^{R h^-}$ -Kreuzungen (Tab.14a,b).

Für cis-Kreuzungen gilt 6,5% diu^r - und 1,9% cap^r -Transmission (Tab.15a,b).

Die Transmission in neo/ery-trans-Kreuzungen entspricht mit 13,8% für N^R und 55,6% für E^R wieder den entsprechenden 1-Faktorkreuzungen (Tab.16), während in cis-Kreuzungen mit 14,3% für N^R und 23,7% für E^R die ery^r-Transmission deutlich niedriger ist (Tab.17).

diu /neo/ery-3-Faktorkreuzungen in unterschiedlichen Konfigurationen liefern für N^R sehr unterschiedliche Transmissionswerte (von 18% bis zu 98%). Während 18% neo^r-Resistente in der diploiden Nachkommenschaft der N^R -Transmissionshäufigkeit in monofaktoriellen Kreuzungen entspricht, beweisen die hohen Transmissionsraten die Annahme, daß sich mehrere mitochondriale Resistenzmarker gegenseitig in ihrer Ausprägung stark beeinflussen. Die Transmissionsraten der Diuron- und Erythromycin-resistenz liegen im Rahmen monofaktorieller Kreuzungen (Tab.20).

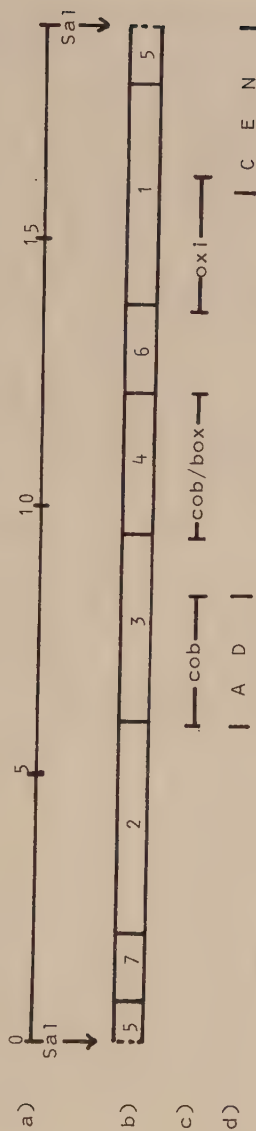
Da vier Resistenzmarker in die Kreuzungsanalysen einbezogen sind, sollte versucht werden, aus den Rekombinationshäufigkeiten zwischen den 4 Loci, diese auf dem mitochondrialen Genom zu lokalisieren. Leider stellte sich die Rekombinationskartierung als nicht durchführbar heraus, da sich die einzelnen Rekombinationsfrequenzen widersprechen. Die Gründe dafür sind:

- Ein zweiter Resistenzmarker auf dem mtGenom beeinflusst die Transmissionshäufigkeit des ersten und verringert diese. Je nachdem, ob Resistenzmarker in cis- oder trans-Konfiguration in die Kreuzungsanalysen eingehen, ist ihre Transmissionsrate sehr unterschiedlich; es kommt anscheinend zur bevorzugten Replikation des einen Molekültyps.
- Reziproke Rekombinantenklassen treten stets in ungleicher Häufigkeit auf. Besonders die Klasse der Doppelresistenten ist stark benachteiligt, was sich speziell in Kreuzungsanalysen mit dem cap-Marker auswirkt. Auch durch EB-Behandlung in Kreuzungen $cap^r \times diu^r$ (vgl. Tab.11) konnte ihre Anzahl nicht signifikant erhöht werden.

Es soll an dieser Stelle wenigstens kurz auf eine mögliche Lokalisation der Resistenzmarker auf der Restriktionskarte eingegangen werden. Die folgende Skizze soll das verdeutlichen.

Geht man von einer Analogie zum mtGenom von *S.cer.* aus, so müßten die Loci für Erythromycin-, Chloramphenicol- und Neomycinresistenz auf Fragment 1 und 5 der Hind III-Restriktionskarte liegen, das entspricht einer Lage bei 16-19 Kilobasenpaaren (Lang, pers. Mitteilung), wenn man die Sal-Restriktionssite als kbp 0 ansetzt. Das ist der

Karte der HindIII-Restriktionsfragmente des mtGenoms von *ade7-50h⁻* (nach Lang, pers.Mitt.)



Erklärung:

- a) Einteilung des mtGenoms in die Anzahl der Basenpaare (18 900 Basenpaare=bp, 18,9 Kilo-basenpaare=kbp)
- b) Anzahl der HindIII-Fragmente
- c) wahrscheinliche Lage der Deletionen in den untersuchten mit⁻-Mutanten, eingeteilt nach den Cytochromausfällen der Atmungskette
- d) Lage der Antibiotikaresistenzmarker in Analogie zu *S.cer.* (Die hier eingezeichnete Reihenfolge der Marker innerhalb der beiden mitochondrialen Bereiche ist willkürlich und macht keine Aussage über die tatsächliche Anordnung auf dem mtGenom!)

Bereich des mtGenoms, der die große und kleine rRNS kodiert. Die Resistenzloci für Diuron und Antimycin vermutet man in der cob-Region, also bei 6 - 8 kbp. Zwischen den beiden Resistenzbereichen (AD - CE) liegt also eine Entfernung von 8-13 kbp. Da eine Rekombinationshäufigkeit von 1% bei S.cer. einer Distanz von 56 Basenpaaren entspricht (Guba, 1980), erwartet man in unserem Fall sicher die maximale Rekombinationsrate, die für Marker auf der Mitochondrien-DNS möglich ist (25% bei S.cer.) zwischen AC bzw. AE oder DC bzw. DE. Diese Marker sind also ungekoppelt. Kopplung würde man eventuell für die näher beieinanderliegenden Loci C/E erwarten. Leider sind aber hier die Rekombinationsfrequenzen widersprüchlich wegen des Ungleichgewichts der beiden Rekombinationsklassen.

Die vorliegenden Ergebnisse erlauben also nicht, die Resistenzloci auf dem mtGenom zu lokalisieren:

- Die Abstandsbestimmung C-E scheitert am besonderen Transmissionsverhalten des cap-Markers (siehe Punkt 8).
- D-E bzw. D-N und E-N liefert oft weit höhere Rekombinationsfrequenzen als die erwarteten 15-20%.

10. MITOCHONDRIALE KREUZUNGEN DURCH FUSION VON PROTOPLASTEN

Wie unter Pkt.9 besprochen, zeigen sich starke Ungleichheiten in der Transmissionshäufigkeit verschiedener Marker. Ein Einfluß von Kerngenen ist als zumindest einer der Gründe für das "Transmissionsgefälle" nicht auszuschließen. Bei *S.cer.* wurde gefunden, daß der parentale Paarungstyp eines Stammes die Transmission von mitochondrialen Genen beeinflussen kann (Callen, 1974): Der Phänotyp des α -Paarungstyps - unabhängig davon, ob er das mitochondrial vererbte Spiramycin-Resistenz- oder -Sensitivitätsallel trug - war stets die häufigere Klasse unter der diploiden Nachkommenschaft einer Kreuzung, nämlich ca. 63%. Callen schlägt drei Erklärungsmöglichkeiten vor, zwischen denen aber leider nicht unterschieden werden konnte:

- Der α -Paarungstyp hat eine größere Anzahl von Kopien des mtGenoms pro Zelle als α .
- Die mtDNS des α -Paarungstyps wird selektiv, z.B. durch ein Restriktionsenzym, in der Zygote ausgeschaltet.
- Eine größere Anzahl von Knospen wird von derjenigen Hälfte der Zygote gebildet, die aus der α -Zelle entstand. Bei begrenzter Plasmadurchmischung entsteht dann der α -Paarungstyp im Überschuß.

Es existieren auch noch andere Hinweise darauf, daß Kerngene Einfluß auf das mtGenom nehmen:

Wolf et al. (1973) beschreiben eine mitochondriale Resistenzmutante von *S.cer.*. Ihre Resistenz gegen Paromomycin (P^R) ist 30-40mal höher als im Wildtyp. Das absolute Resistenzniveau ist jedoch variabel, je nach dem genetischen Kernhintergrund des Stammes. Tetradenanalysen von

P^R -Diploiden haben gezeigt, daß einige Kerngene fähig sind, das Resistenzniveau der haploiden Nachkommen zu senken. Es wurden sogar gegen Paromomycin phänotypisch sensitive Sporen gefunden, die aber noch das P^R -Allel transmittieren können. Diese Ergebnisse demonstrieren Interaktion zwischen mtAllelen und Kerngenen.

Bemerkenswert ist der Effekt der nukleären Mutation UVSrho5 im Stamm N123 auf Zygotenklonverteilungen. Dieser Stamm hat einen erhöhten Gehalt an mtDNS und in Kreuzungen werden die Allele dieses Stammes bevorzugt transmittiert (Birky, 1975).

Um einen möglichst identischen chromosomalen Hintergrund der beiden Kreuzungspartner zu haben, sollten etwaige Einflüsse unterschiedlicher Paarungstypallele ausgeschaltet werden.

Zellen identischen Paarungstyps ($h^- \times h^- / h^+ \times h^+$) bilden keine Zygoten. Wird aber ihre Zellwand abgedaut, können die entstandenen Protoplasten verschmelzen und stabile diploide Klone bilden, so wie sie bei einer Kreuzung eines h^- -Stammes mit der sporulationsdefekten Mutante me1 entstehen. Transmission, Segregation und Rekombination mitochondrialer Marker in diploiden Klonen, die auf diese beiden Methoden entstanden sind, können verglichen werden, und der eventuelle Einfluß der Paarungstypallele wird sichtbar.

Zellen zweier haploider h^- -Stämme mit komplementierenden Auxotrophien (*ade7*, *lys4*) und mitochondrialen Resistenzen (D^R , E^R) werden durch ein lytisches Enzym, produziert von *Trichoderma viride*, zu Protoplasten umgeformt. Die Fusion der Protoplasten erfolgt in Polyäthylenglycol. Die prototrophen Fusionsprodukte werden auf Minimalmedium selektiert, die entstandenen Kolonien

subkloniert. Die Bestimmung des DNS-Gehalts (nach Sipiczki und Ferenczy, 1977) ergab, daß die meisten Fusionsklone diploid sind. Zusätzlich wurden einige Klone aus anderen Fusionsexperimenten mit pFPA haploidisiert. Durch die mitotische Haploidisierung wurden die auxotrophen Marker der haploiden Parentalstämme wieder erhalten, was beweist, daß die Fusionsprodukte echt diploid und keine prototroph gewordenen Haploiden sind (Tab.21).

103 Klone des Fusionsexperiments $diu^r-301 ade7-50h^- / ery^r-128 lys4-95h^-$ wurden einzeln resuspendiert, auf Minimalmedium + Phloxin plattiert und auf Antibiotikaplatten gestempelt. Für jeden Fusionsklon wurden 500 bis 1000 diploide Nachkommenklone analysiert (Tab.22). Die Ähnlichkeit der Durchschnitts-Transmissions- und Rekombinationshäufigkeiten mit denen in Standardkreuzungen $diu^r-301 ade7-50h^- \times ery^r-114 mei1-102 lys4-95$ läßt darauf schließen, daß der Paarungstyp keinen ersichtlichen Einfluß auf diese Parameter hat. Um diese Behauptung zu erhärten, wurden noch Protoplastenfusionen von zwei $mei1$ -Stämmen ($diu^r-122 mei1 arg^- / ery^r-100 mei1 ade^-$) und zwei h^+ -Stämmen ($ery^r-114 h^+ ura^- / diu^r-122 h^+ ade^-$) durchgeführt. Um einen direkten Vergleich zwischen Zygotenklon- und Fusionsklonanalysen zu haben, wurden auch noch Protoplasten der Stämme $diu^r-301 h^- ade^-$ und $ery^r-100 mei1 arg^-$ miteinander verschmolzen. Zygotenbildung der Zellen auf natürlichem Wege kann man ausschließen, da die Zellkulturen fast 100%ig protoplastiert waren und auch nicht mit Sporulationsagar, der zur Zellpaarung nötig ist, in Berührung kamen.

Ein Fusionsexperiment in cis-Konfiguration, $diu^r ery^r-100 h^- lys^- / 50h^- ade^-$ wurde ebenfalls durchgeführt (Tab.22).

11. BEWEIS FÜR DIE LOKALISATION DER MUTATIONSORTE AUF DER MITOCHONDRIALEN DNS

Die unter Punkt 3 bis 7 behandelten Kriterien liefern den Beweis ausschließlich dafür, daß die Mutanten extra-chromosomalen Erbgang aufweisen; bisher ist also nicht bewiesen, daß es sich bei den Antibiotikaresistenzen um mitochondrial vererbte Marker handelt.

Der Nachweis mitochondrialer Vererbung wurde folgendermaßen erbracht:

Zirkuläre DNS-Moleküle von 6, μ m Länge wurden aus DNase-behandelten Mitochondrien isoliert.

Aus Stämmen, die einen cytoplasmatischen Mutator der mt-DNS (mut^+) tragen, segregieren mit großer Häufigkeit atmungsdefekte Mutanten, denen die Cytochrome aa_3 und/oder b fehlen, in deren Zellen aber noch mitochondriale Proteinsynthese stattfindet (mit^- -Mutanten). Einige von ihnen revertieren zur Atmungskompetenz, andere nicht. Zwei nicht-revertierende mit^- -Mutanten aus Stamm ana^-8 zeigen Deletionen in der 6, μ m-DNS-Spezies von 900 bzw. 1500 Basenpaaren (Wolf et al., 1980). Ausfälle von Cytochromen der Atmungskette sind also mit Deletionen der mtDNS korreliert. Die Antibiotikaresistenzmarker D^R und A^R werden in Kreuzungen mit einem Wildtypstamm auf die diploide Nachkommenschaft transmittiert (s. Pkt. 3). Nun gibt es mit^- -Mutanten aus diesen Stämmen, die keine Befähigung mehr zur A^R -bzw. D^R -Transmission haben. Der Marker $\text{D}^R(\text{A}^R)$ geht also verloren; er scheint auf demjenigen DNS-Segment lokalisiert zu sein, das in der mit^- verloren gegangen ist (Wolf und Lang, pers. Mitt.).

Schließlich liefern auch noch Hybridisierungsexperimente von rDNS mit mtDNS einen Hinweis darauf, daß es sich bei den aus DNase-behandelten Mitochondrien isolierten DNS-

Molekülen um mtDNS handelt, auf der die mt Diuron- bzw. Antimycinresistenzmutation lokalisiert sind (Anziano, pers. Mitt.). Der Nachweis der mitochondrialen Kodierung der restlichen Antibiotikaresistenzen ergibt sich durch ihre kovariante Transmission (s.Pkt.7).

ZUSAMMENFASSUNG ZU TEIL I

Schizosaccharomyces pombe ist ein haploider Organismus, der nur durch die sporulationsdefekte Mutante meil erzwingenerweise im diploiden Lebenszyklus gehalten werden kann.

Mitochondriale Resistenz-Mutanten konnten spontan und durch Manganinduktion in verschiedenen Loci (A, D, E, C, N) isoliert werden.

Durch mitotische Segregation in Diploiden, pFPA-Induzierte mitotische Haploidisierung und Beeinflußbarkeit der Transmission durch EB konnte ihr extrachromosomaler Erbgang nachgewiesen werden.

Durch Analyse der mtDNS mittels Restriktion von Deletionsmutanten konnten Veränderungen der mtDNS korreliert werden mit Cytochromausfällen in der Atmungskette und mit dem Verlust zur Befähigung, eine Antibiotikaresistenz zu transmittieren.

Hybridisierung von rRNS mit mtDNS und Kovarianzanalyse der Transmission der Resistenzmarker beweist, daß es sich um mitochondriale Mutanten handelt.

Durch Fusion von Protoplasten aus Stämmen identischen Paarungstyps konnte ein Einfluß von Kerngenen auf die Transmission mitochondrialer Marker ausgeschlossen werden.

Zahlreiche Mehrfaktorkreuzungen in cis- und trans-Konfiguration zeigen Besonderheiten in der Transmissions- und Rekombinationsfrequenz, die eine eindeutige genetische Karte nicht ermöglichen.

Von allen untersuchten Mutanten erwiesen sich für weitere Analysen die D^R - und E^R -Isolate am geeignetsten, da sie hohe Transmissionswerte (um 50%), beide Rekombinationsklassen in etwa im Gleichgewicht und reproduzierbare Rekombinationswerte zeigen.

FIGUREN UND TABELLEN ZU TEIL I

(Die Zahlenangaben in den Tabellen sind als Prozente
ausgedrückt.)

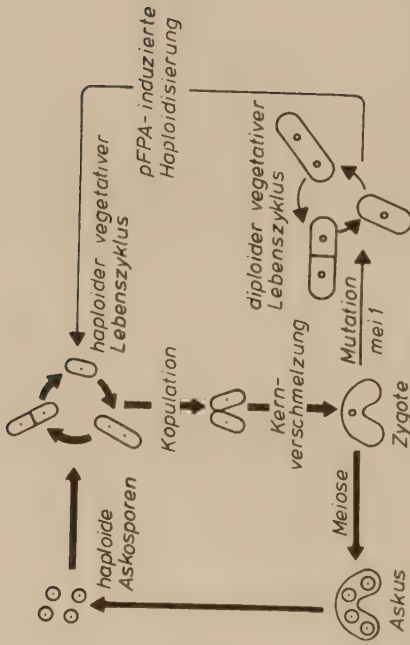


Fig. 1: Lebenszyklus von *Schizosaccaromyces pombe* (nach Leupold)

Der Kreislauf mit den dicken Pfeilen zeigt den normalen haploiden Zellzyklus. Die dünnen Pfeile markieren den durch die sporulationsdefekte Mutante *mei I* erzwungenen diploiden Lebenszyklus.

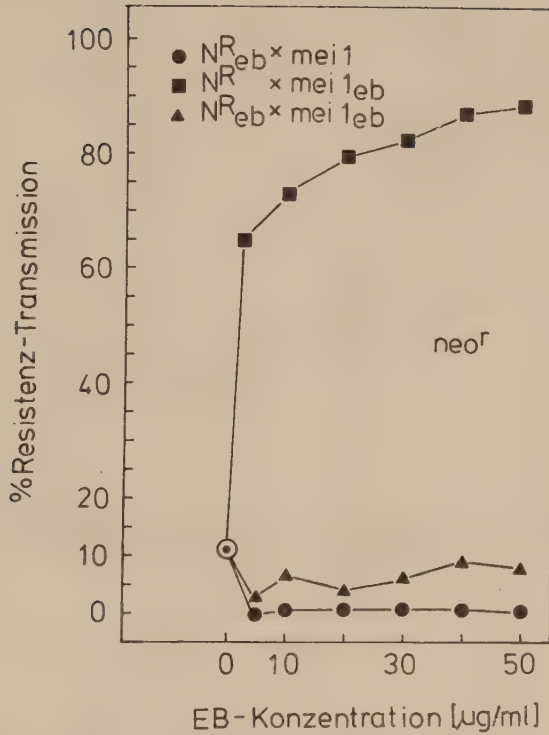


Fig. 2: Veränderung der Neomycin-Resistenz-Transmission in Diploiden aus der Kreuzung $neo^r-1 ade7-50h^- \times mei1-140 leu1-32$ durch Ethidiumbromid-Behandlung der haploiden Stämme vor ihrer Paarung

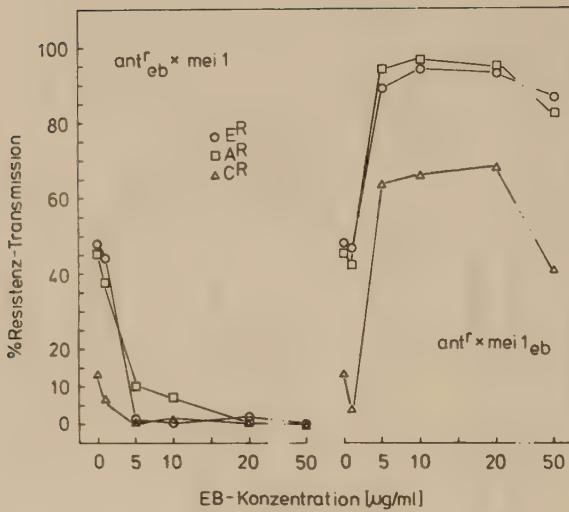


Fig.3 : Veränderung der Transmissionsrate mitochondrialer Resistenzmarker in Diploiden durch Ethidiumbromid(EB)-Behandlung der haploiden Stämme vor ihrer Paarung

Kreuzungen: ana^r-14 ade7-50h⁻)

ery^r-128 lys4-95h⁻) mei1-102 ura1-171

cap^r6-1 ade7-50h⁻) arg1-1

links: Transmissionsänderung durch EB-Behandlung des resistenten, rechts: Transmissionsänderung durch EB-Behandlung des sensitiven Kreuzungspartners bei ansteigenden EB-Konzentrationen

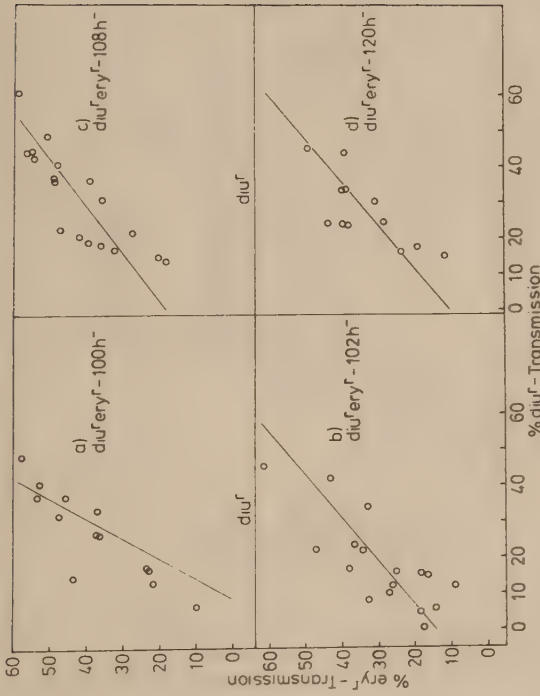


Fig. 4: Kovarianz der Transmission mitochondrialer Resistenzen in cis-Kreuzungen

$D^R E_h^- \times D^S E^S \text{ meil}$

- a) $\text{diu}^f \text{eryf}^- 100 \text{ ade7-50h}^- \times \text{meil-102 ural-171 arg1-1}$
- b) $\text{diu}^f \text{eryf}^- 102$
- c) $\text{diu}^f \text{eryf}^- 108$
- d) $\text{diu}^f \text{eryf}^- 120$

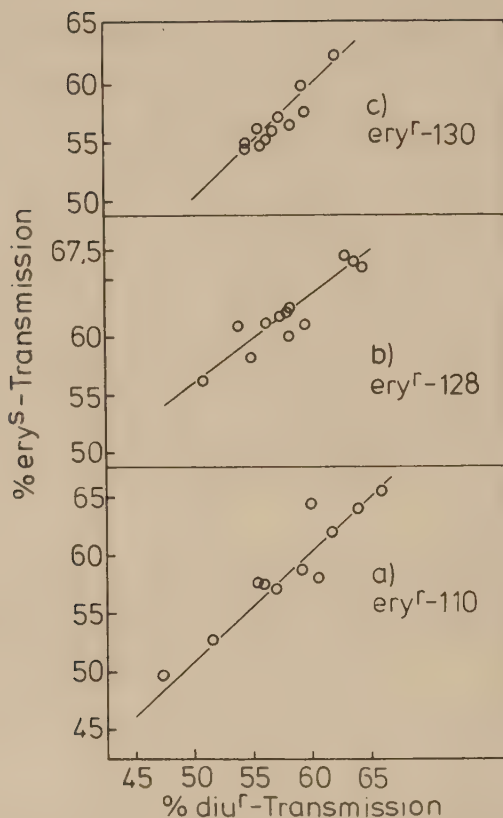


Fig. 5: Kovarianz der Transmission mitochondrialer Resistenzen in trans-Kreuzungen $E^{Rh-} \times D^{R_{mei1}}$

a) $ery^R-110 \text{ } lys4-95h^- \times diu^R_{Mn2-5} \text{ } mei1 \text{ } 140$
 $leu1-32$

b) ery^R-128

c) ery^R-130

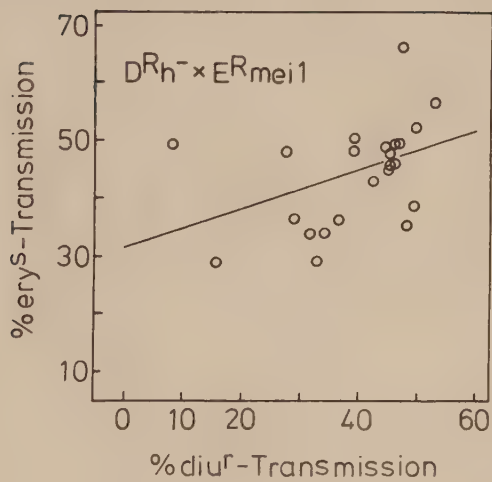


Fig. 6: Kovarianz der Transmission mitochondrialer Resistenzen in trans-Kreuzungen $D^{Rh-} \times E^{R_{mei1}}$ (Kreuzungen verschiedener Stämme zusammengefaßt)

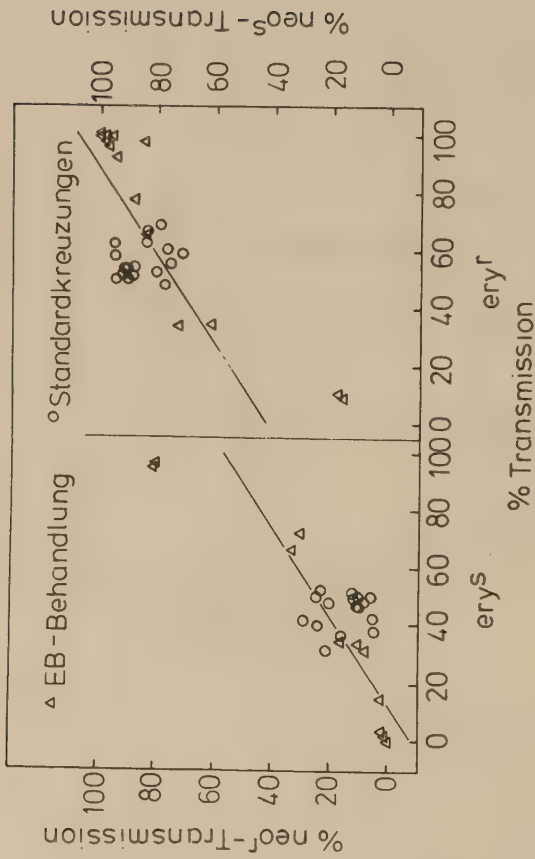


Fig. 7: Kovarianz der Transmission mitochondrialer Resistenzen in Standardkreuzungen und nach EB-Behandlung in Kreuzungen $neo^r-1 ade7-50h^- \times ery^r-114 meil-102 ural-171 arg1-1$

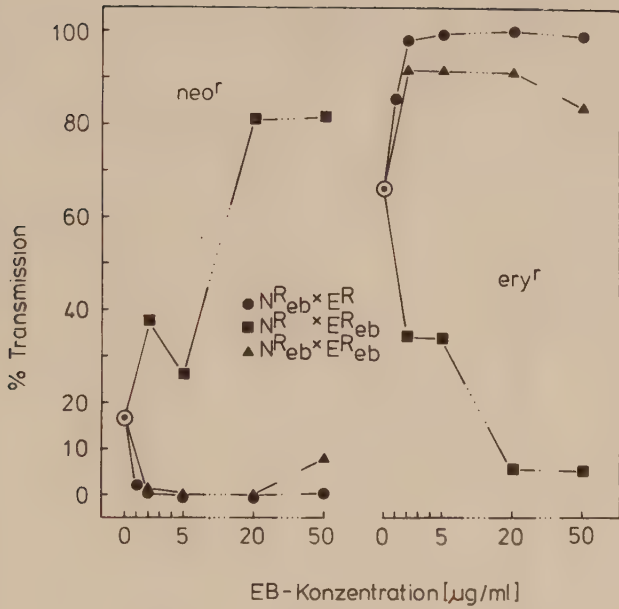


Fig. 8: Veränderung der Transmissionsrate mitochondrialer Resistenzmarker in Diploiden durch Ethidiumbromid-Behandlung der haploiden Stämme vor der Kreuzung $neo^r-1 ade7-50h^- \times ery^r-114 mei1-102 lys4-95$

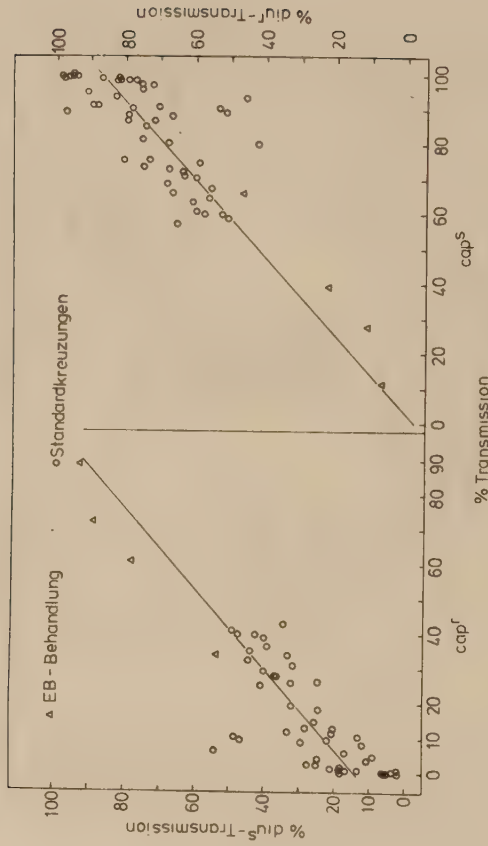


Fig. 9: Kovarianz der Transmission mitochondrialer Resistenzen gegen Chloramphenicol und Diuron in Kreuzungen unter Standardbedingungen und nach EB-Behandlung (Kreuzungen verschiedener cap^I - und diu^I -Stämme zusammengefaßt)

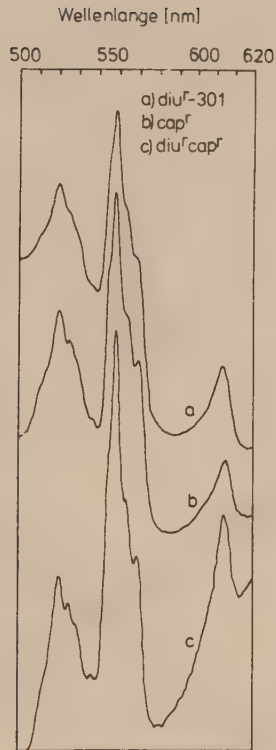


Fig. 10: Tieftemperatur-Cytochromspektren der Stämme
 $diu^r-301 ade7-50h^-$
 $cap^{r6-1} mei1-140 leu1$
 $diu^r-301 cap^{r1-1} mei1-140 leu1$

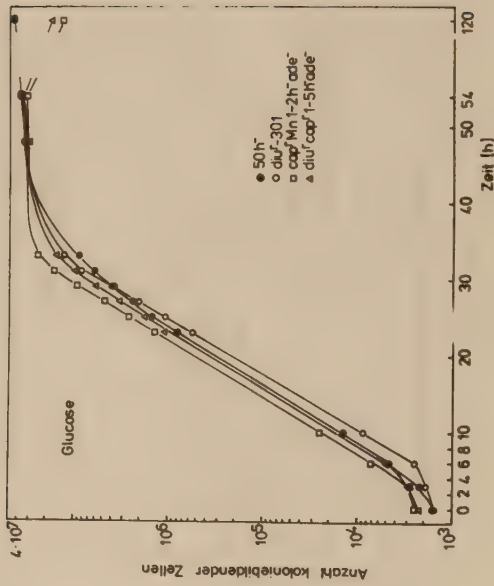


Fig. 1.: Bestimmung der Anzahl zur Koloniebildung befähigter Zellen des Wildtyps ade⁻50h⁻ und der Resistenzmutanten div^r-301 ade⁻50h⁻, cap^r Mn1-2 ade⁻50h⁻ und div^r-301 cap^r 1-5 ade⁻50h⁻ in Glucose-Vollmedium

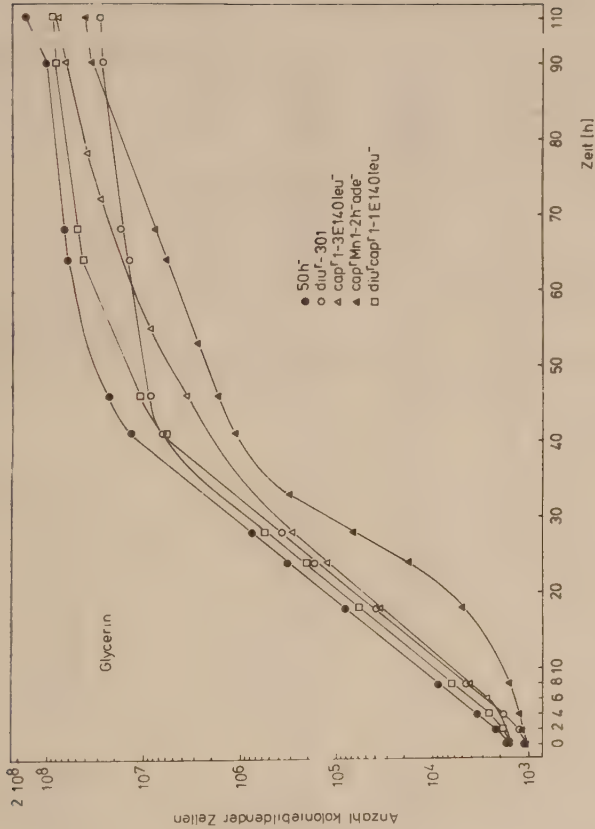


Fig. 12: Bestimmung der Anzahl zur Koloniebildung befähigter Zellen des Wildtyps ade7-50h⁻ und der Resistenzmutanten divR⁻301 ade7-50h⁻, capI⁻3E140leu⁻, capIMn1-2 ade7-50h⁻ und divR⁻301 capI⁻1E140leu⁻ in Glycerin-Vollmedium

Tab. 1

ana - Transmission (%)				
Kreuzung	A ^R	A ^S	Kol.	$\bar{x}A^R$
ana ^r -14h ⁻ ade ⁻ x ⁻	43,2	56,8	421	41,1 ± 5,5*)
mei1-102 ura ⁻ arg ⁻	45,2	54,8	683	
	34,9	65,1	500	
ana ^r -8h ⁻ ade ⁻ x ⁻	22,1	77,9	1564	27,8 ± 8,5
mei1-140 leu ⁻	33,4	66,6	1262	
	17,6	82,4	1151	
	38,9	61,1	507	
	27,1	72,9	601	

*) : Mittelwert ($\bar{x}$) ± Standardabweichung (s)

Tab. 2

diu - Transmission (%)				
Kreuzung	D ^R	D ^S	Kol.	$\bar{x}_D^R$
mei1-102 ura ⁻ arg ⁻	30,7	69,3	283	
x diu ^r -301h ⁻ ade ⁻	38,4	61,6	216	
	50,1	49,9	670	
	37,2	62,8	1130	
	32,9	67,1	586	
	27,5	72,5	691	
	39,2	60,8	479	
	25,9	74,1	290	
	33,5	66,5	538	
	44,0	56,0	457	
	48,9	51,1	500	
mei1-140 leu ⁻	37,9	62,1	530	
x diu ^r -301h ⁻ ade ⁻	23,4	76,6	278	
	48,7	51,3	374	
	43,0	57,0	409	
	48,5	51,5	500	
				36,6 ± 8,3
mei1-102 x				
diu ^r -72	50,5	49,5	ca.500	
-74	38,1	61,9		
-74b	42,1	57,9		
-76	39,0	61,0		
-78	46,0	54,0		
-79	37,6	62,4		
-80	47,2	52,8		
-82	44,1	55,9		
-83	38,5	61,5		
-84	42,1	57,9		
-85	46,8	53,2		
mei1-140 x				
diu ^r -72	51,0	49,0	ca.500	
-74	55,8	44,2		
-74b	48,4	51,6		
-76	55,8	44,2		
-78	46,5	53,5		
-79	55,9	44,1		
-80	47,6	52,4		
-82	55,6	44,4		
-83	47,1	52,9		
-84	49,6	50,4		
-85	49,2	50,8		

Tab. 2, Fortsetzung

Kreuzung	D ^R	D ^S	Kol.	$\bar{x}_D^R$
mei1-59 x diu ^r -72	56,8	43,2	ca.500	
-74	53,6	46,4		
-74b	55,4	44,6		
-76	56,2	43,8		
-78	57,1	42,9		
-79	52,5	47,5		
-80	52,9	47,1		
-82	54,8	45,2		
-83	51,4	48,6		
-84	53,3	46,7		
-85	58,1	41,9		
-301	49,8	50,2		
				49,6 ± 5,8
mei1-59 x ana ^r diu ^r -71	43,4	56,6	ca.500	
-73	43,6	56,4		
-75	40,8	59,2		
-77	40,8	59,2		
-81	44,1	55,9		
mei1-102 x ana ^r diu ^r -71	44,1	55,9	ca.500	
-73	47,3	52,7		
-75	34,5	65,5		
-77	33,0	67,0		
-81	46,7	53,3		
mei1-140 x ana ^r diu ^r -71	53,9	46,1	ca.500	
-73	42,9	57,1		
-75	40,9	59,1		
-77	47,9	52,1		
-81	48,0	52,0		
				43,5 ± 5,3

Tab. 3

ery - Transmission (%)

Kreuzung	E ^R	E ^S	Kol.	$\bar{x}E^R$
ery ^r -110h ⁻ lys ⁻ x mei1-140 leu	58,0	42,0	760	
ery ^r -128h ⁻ lys ⁻ x mei1-140 leu	40,2	59,8	909	
ery ^r -130h ⁻ lys ⁻ x mei1-140 leu	60,9	39,1	1378	
ery ^r -128h ⁻ lys ⁻ x mei1-102 ura arg	48,1	51,9	565	
ery ^r -102mei1-140 x his2-245h	58,0	42,0	393	53,0 ± 8,7
ery ^r Mn-1 x mei1	42,2	57,8	752	
-3	42,7	57,3	234	
-4	48,8	51,2	322	
-5	33,7	66,3	181	
-6	47,8	52,2	356	
-7	48,5	51,5	604	
-8	48,8	51,2	576	
-9	43,5	56,5	451	
-10	44,9	55,1	761	
-11	40,1	59,9	484	
-12	45,1	54,9	328	
-15	49,7	50,3	489	
-17	43,2	56,8	250	
-51	53,0	47,0	281	
-53	45,7	54,3	359	
-56	45,0	55,0	382	
-57	44,9	55,1	403	
-58	37,9	62,1	219	
-4E/1	42,1	57,9	516	44,6 ± 4,5

Tab. 4

cap - Transmission (%)

Kreuzung	C ^R	C ^S	Kol.
diu ^r cap ^r 1-1mei1-140 x 50h	1,3 0,2	98,7 99,8	150 531
diu ^r cap ^r Mn1-1h ⁻ ade ⁻ x mei1-140 leu ⁻	4,5 1,3 1,5 7,2	95,5 98,7 98,5 92,8	66 451 982 238
diu ^r cap ^r Mn2-1h ⁻ ade ⁻ x mei1-140 leu ⁻	2,2 6,9	97,8 93,1	246 291
diu ^r cap ^r Mn2-2h ⁻ ade ⁻ x mei1-140 leu ⁻	5,0 2,4	95,0 97,6	360 242
diu ^r cap ^r Mn2-3h ⁻ ade ⁻ x mei1-140 leu ⁻	0	100	324
diu ^r cap ^r Mn2-5h ⁻ ade ⁻ x mei1-140 leu ⁻	7,0	93,0	443
diu ^r cap ^r Mn2-6h ⁻ ade ⁻ x mei1-140 leu ⁻	4,0 1,8	96,0 98,2	500 555
diu ^r cap ^r Mn2-8h ⁻ ade ⁻ x mei1-140 leu ⁻	13,3 5,6	86,7 96,4	115 324
diu ^r cap ^r 1-110h ⁻ ade ⁻ x mei1-140 leu ⁻	2,5 1,8 0 0,4 1,5 0,2	97,5 98,2 100 99,6 98,5 99,8	874 495 1023 1057 661 687

Tab. 4, Fortsetzung

Kreuzung	C ^R	C ^S	Kol.	$\bar{x}C^R$
diu ^r cap ^r -111h ⁻ ade ⁻	0	100	526	
x mei1-140 leu ⁻	0	100	263	
	2,2	97,8	604	
x mei1-102ura ⁻ arg ⁻	0	100	756	
	0,9	99,1	883	
	1,3	88,7	541	
diu ^r cap ^r -122h ⁻ ade ⁻	5,2	94,8	326	
x mei1-140 leu ⁻	0,4	99,6	502	
x mei1-102 ura ⁻ arg ⁻	0	100	495	
	2,1	97,9	1038	
	3,2	96,8	716	
diu ^r cap ^r -134h ⁻ ade ⁻	0,9	99,1	716	
x mei1-140 leu ⁻	0,2	99,8	1024	
x mei1-102 ura ⁻ arg ⁻	0,4	99,6	911	
	2,0	98,0	450	
diu ^r cap ^r -101h ⁻ ade ⁻				
x mei1-102 ura ⁻ arg ⁻	2,7	97,3	954	
mei1-102 ura ⁻ arg ⁻				
x diu ^r cap ^r -104h ⁻ ade ⁻	1,6	98,4	1078	
-124	2,3	97,7	1035	
-125	1,8	98,2	659	
-126	3,4	96,6	472	
-127	3,8	96,2	234	
-132	2,7	97,3	659	
				2,4 ± 2,9

Tab. 5

neo - Transmission (%)

Kreuzung	N ^R	N ^S	Kol.	$\bar{x}N^R$
neo ^r -1h ⁻ ade ⁻ x mei1-140	16,5 19,6 17,0 18,2	83,5 80,4 83,0 81,8	411 255 984 928	17,8
neo ^r -2h ⁻ ade ⁻ x mei1-140	16,4 15,1	83,6 84,9	189 905	15,8
neo ^r -3h ⁻ ade ⁻ x mei1-140	11,1 17,4	88,8 82,6	243 282	14,3
ana ^r -8neo ^r -2 x mei1-140	8,1	91,9	395	
ana ^r -8 neo ^r -3 x mei1-140	6,0	94,0	216	
-4	4,2	95,8	428	
-9	21,2	78,8	255	
-10	9,5	90,5	262	
ana ^r -14 afB neo ^r -1	11,5	88,5	313	13,8
2b neo ^r	13,0	87,0	440	
3 Ia neo ^r	18,4	81,6	256	
7a neo ^r	27,6	72,4	438	
7b neo ^r	16,4	83,6	283	
B3a neo ^r	7,0	93,0	417	
B3b neo ^r	23,9	76,1	452	
B4a neo ^r	13,2	86,8	911	
x mei1-140 leu ⁻				14,8 ± 6,0

Tab. 6

Zusammenfassung der Transmissionshäufigkeiten(%)
der verschiedenen Antibiotika-Resistenz-Loci

Locus	$\bar{x}$	Herkunft d. Mut.
ery (spontane Mutanten)	53,0 $\pm$ 8,7	(diese Arbeit)
ery (Mangan-induziert)	44,6 $\pm$ 4,5	(Seitz-Mayr)
ana ^r -8	27,8 $\pm$ 8,5	(diese Arbeit)
ana ^r -14	41,1 $\pm$ 5,5	(diese Arbeit)
diu ₁ = D ^{RA} S	36,6 $\pm$ 8,3	(diese Arbeit)
diu ₁	49,6 $\pm$ 5,8	(Burger)
diu ₂ = D ^{RA} R	43,5 $\pm$ 5,3	(Burger)
cap	2,4 $\pm$ 2,9	(diese Arbeit)
neo	14,8 $\pm$ 6,0	(diese Arbeit)

Tab. 7a

Haploidisierung von Diploiden aus den
Kreuzungen $\text{ery}^{\text{r}}-128 \text{ lys}4-95\text{h}^-$, $\text{cap}^{\text{r}}6-1\text{ade}7-50\text{h}^-$,
 $\text{neo}^{\text{r}}-1 \text{ ade}7-50\text{h}^- \times \text{mei}1-102 \text{ ura}1-171 \text{ arg}1-1$

Dipl.	resis- ^g tent	sensi- bel
$\text{E}^{\text{R}}-1$	99,2	0,8
$\text{E}^{\text{R}}-2$	99,5	0,5
$\text{E}^{\text{S}}-1$	0	100
$\text{E}^{\text{S}}-2$	0	100
$\text{C}^{\text{R}}-1$	100	0
$\text{C}^{\text{R}}-2$	99,6	0,4
$\text{C}^{\text{S}}-1$	0	100
$\text{C}^{\text{S}}-2$	0	100
$\text{N}^{\text{R}}-1$	100	0
$\text{N}^{\text{R}}-2$	99,7	0,3
$\text{N}^{\text{S}}-1$	0	100
$\text{N}^{\text{S}}-2$	0	100

Tab. 7b Kernmarker-Verteilung nach Haploidisierung
von Diploiden aus den Kreuzungen
 $ery^R-128lys4-95h^-$, $cap^R6-1 ade7-50h^-$, neo^R-1
 $ade7-50h^-$ x $mei1-102 ura1-171 arg1-1$

	E^R-1	E^R-2	E^S-1	E^S-2
LYS	35,5	41,9	100	89,8
lys	64,5	58,1	0	10,2
URA	52,7	56,5	54,4	46,3
ura	47,3	43,5	45,6	53,7
ARG	15,8	23,8	81,0	68,8
arg	84,2	76,2	19,0	31,2
	C^R-1	C^R-2	C^S-1	C^S-2
ADE	100	57,4	96,6	88,5
ade	0	42,6	3,4	11,5
URA	100	82,8	81,5	100
ura	0	17,2	18,5	0
ARG	57,8	22,3	69,3	87,2
arg	42,2	77,7	30,7	12,8
	N^R-1	N^R-2	N^S-1	N^S-2
ADE	87,0	87,5	41,4	70,3
ade	13,0	12,5	58,6	29,7
URA	59,3	91,9	36,6	79,6
ura	40,7	8,1	63,4	20,4
ARG	35,2	76,5	100	55,7
arg	64,8	23,5	0	44,3

Tab. 8

EB-Behandlung in der Kreuzung
neo^R-1 ade7-50h⁻ x mei1-140 leu1-32

	N ^R	N ^S	Kol.
N ^R x mei1 (Ko)	11,1±3,9	88,9	243
N ^R 5/ugEB x mei1	0	100	481
N ^R 10/ugEB x mei1	0,7±1,4	99,3	145
N ^R 20/ugEB x mei1	0,6±0,8	99,4	334
N ^R 30/ugEB x mei1	0,7±0,8	99,3	459
N ^R 40/ugEB x mei1	0,7±1,4	99,3	141
N ^R 50/ugEB x mei1	0,4±0,8	99,6	254
N ^R x mei1 5/ugEB	64,5±4,5	35,5	425
N ^R x mei1 10/ugEB	72,4±3,3	27,6	721
N ^R x mei1 20/ugEB	78,8±3,3	21,2	580
N ^R x mei1 30/ugEB	81,8±4,1	18,2	346
N ^R x mei1 40/ugEB	86,4±4,0	13,6	286
N ^R x mei1 50/ugEB	87,8±2,6	12,2	600
N ^R 5/ugEB x mei1 5/ugEB	2,9±1,4	97,1	553
N ^R 10/ugEB x mei1 10/ugEB	6,4±3,2	93,6	218
N ^R 20/ugEB x mei1 20/ugEB	4,0±1,8	96,0	455
N ^R 30/ugEB x mei1 30/ugEB	5,9±2,4	94,1	356
N ^R 40/ugEB x mei1 40/ugEB	9,1±1,6	90,0	1215
N ^R 50/ugEB x mei1 50/ugEB	8,2±2,6	91,8	427

Tab. 9

EB-Behandlung in der Kreuzung

ery^R-128 $lys4-95h^-$ x $mei1-102$ $ura1-171$ $arg1-1$

	E^R	E^S	Kol.
E^R x $mei1$ (Ko)	48,1 $\pm$ 4,1	51,9	565
E^R 1/ μ gEB x $mei1$	44,3 $\pm$ 4,7	55,7	438
E^R 5/ μ gEB x $mei1$	3,1 $\pm$ 1,5	96,9	490
E^R 10/ μ gEB x $mei1$	0,5 $\pm$ 0,6	99,5	597
E^R 20/ μ gEB x $mei1$	2,0 $\pm$ 0,9	98,0	866
E^R 50/ μ gEB x $mei1$	0,1 $\pm$ 0,2	99,9	682
E^R x $mei1$ 1/ μ gEB	47,2 $\pm$ 4,4	52,8	502
E^R x $mei1$ 5/ μ gEB	88,9 $\pm$ 1,9	21,1	1030
E^R x $mei1$ 10/ μ gEB	94,1 $\pm$ 1,9	5,9	615
E^R x $mei1$ 20/ μ gEB	92,8 $\pm$ 1,9	7,2	725
E^R x $mei1$ 50/ μ gEB	86,5 $\pm$ 2,6	13,5	676

EB-Behandlung in der Kreuzung

ana^R-14 $ade7-50h^-$ x $mei1-102$ $ura1-171$ $arg1-1$

	A^R	A^S	Kol.
A^R x $mei1$ (Ko)	45,2 $\pm$ 3,7	54,8	683
A^R 1/ μ gEB x $mei1$	37,5 $\pm$ 2,8	62,5	782
A^R 5/ μ gEB x $mei1$	9,8 $\pm$ 1,9	90,2	999
A^R 10/ μ gEB x $mei1$	7,2 $\pm$ 2,2	92,8	512
A^R 20/ μ gEB x $mei1$	0,4 $\pm$ 0,6	99,6	467
A^R 50/ μ gEB x $mei1$	-	-	-

Tab. 9, Fortsetzung

	A ^R	A ^S	Kol.
A ^R x mei1 1/ugEB	42,2 _± 4,0	57,8	536
A ^R x mei1 5/ugEB	94,2 _± 2,0	5,8	536
A ^R x mei1 10/ugEB	96,3 _± 1,5	3,7	590
A ^R x mei1 20/ugEB	94,2 _± 1,9	5,8	570
A ^R x mei1 50/ugEB	82,1 _± 2,4	17,9	747

EB-Behandlung in der Kreuzung

cap^r6-1 ade7-50h⁻ x mei1-102 ura1-171 arg1-1

	C ^R	C ^S	Kol.
C ^R x mei1 (Ko)	13,3 _± 2,6	86,7	667
C ^R 1/ugEB x mei1	6,4 _± 2,2	93,6	470
C ^R 5/ugEB x mei1	0,2 _± 0,4	99,8	421
C ^R 10/ugEB x mei1	0,8 _± 1,6	99,2	118
C ^R 20/ugEB x mei1	0,2 _± 0,4	99,8	522
C ^R 50/ugEB x mei1	0,2 _± 0,4	99,8	406
C ^R x mei1 1/ugEB	3,7 _± 1,7	96,3	458
C ^R x mei1 5/ugEB	63,6 _± 4,8	36,4	382
C ^R x mei1 10/ugEB	66,1 _± 7,0	33,9	174
C ^R x mei1 20/ugEB	68,0 _± 4,2	32,0	466
C ^R x mei1 50/ugEB	40,8 _± 3,4	59,2	822

Tab. 10 EB-Behandlung in der Kreuzung $\text{neo}^{\text{F-1ade7-50h}} \times \text{ery}^{\text{F-114mei1-102}} \text{lys4-95}$

	$\text{N}^{\text{R}}_{\text{E}} \text{S}$ P	$\text{N}^{\text{S}}_{\text{E}} \text{R}$ P	$\text{N}^{\text{R}}_{\text{E}} \text{R}$ R	$\text{N}^{\text{S}}_{\text{E}} \text{R}$ R	Kol.	Transmission $\text{N}^{\text{R}}_{\text{E}} \text{S}$
$\text{N}^{\text{R}} \times \text{E}^{\text{R}} \text{ (Ko)}$	16,3	65,5	0,4	17,8	913	16,7 34,1
$\text{N}^{\text{R}}_{1/\text{ugEB}} \times \text{E}^{\text{R}}$	1,3	84,5	0,7	13,5	155	2,0 14,8
$\text{N}^{\text{R}}_{2/\text{ugEB}} \times \text{E}^{\text{R}}$	0,4	97,8	0	1,8	457	0,4 2,2
$\text{N}^{\text{R}}_{5/\text{ugEB}} \times \text{E}^{\text{R}}$	0	99,5	0	0,5	368	0 0,5
$\text{N}^{\text{R}}_{20/\text{ugEB}} \times \text{E}^{\text{R}}$	0	100	0	0	417	0 0
$\text{N}^{\text{R}}_{50/\text{ugEB}} \times \text{E}^{\text{R}}$	0,3	99,0	0	0,7	286	0,3 1,0
$\text{N}^{\text{R}} \times \text{E}^{\text{R}}_{2/\text{ugEB}}$	37,0	33,5	0,5	29,0	200	37,5 66,0
$\text{N}^{\text{R}} \times \text{E}^{\text{R}}_{5/\text{ugEB}}$	25,6	33,4	0,3	40,7	329	25,9 66,3
$\text{N}^{\text{R}} \times \text{E}^{\text{R}}_{20/\text{ugEB}}$	81,2	5,6	0	13,2	373	81,2 94,4
$\text{N}^{\text{R}} \times \text{E}^{\text{R}}_{50/\text{ugEB}}$	81,6	4,9	0	13,5	674	81,6 95,1
$\text{N}^{\text{R}}_{2/\text{ugEB}} \times \text{E}^{\text{R}}_{2/\text{ugEB}}$	1,4	96,6	0	2,0	146	1,4 3,4
$\text{N}^{\text{R}}_{20/\text{ugEB}} \times \text{E}^{\text{R}}_{20/\text{ugEB}}$	0,2	96,2	0	3,6	501	0,2 3,8
$\text{N}^{\text{R}}_{50/\text{ugEB}} \times \text{E}^{\text{R}}_{50/\text{ugEB}}$	7,4	82,9	0,5	9,2	216	7,9 16,6
$\text{N}^{\text{R}}_{20/\text{ugEB/U}} \times \text{E}^{\text{R}}_{20/\text{ugEB/U}^*}$	10,1	72,8	0,5	16,6	416	10,6 26,7

*) : nach EB-Behandlung wurden die Zellen nochmals in Glucosemedium ohne EB für ca. 10 Generationen gezogen

Tab. 11 EB-Behandlung in Kreuzungen $cap^I \times diu^I$

Kreuzung	$D_{C^I}^{R,S}$	$D_{C^I}^{S,R}$	$D_{C^I}^{R,R}$	$D_{C^I}^{S,S}$	Kol.	Transmission $D_{C^I}^R$
$cap^I_{6-1h} ade^- \times diu^I_{-72} mei1-140$ (Ko)	55,2	32,3	0,3	12,2	697	55,5
$diu^I_{-72} 10_{ugEB}$	46,4	33,9	0	19,7	710	46,4
$diu^I_{-72} 20_{ugEB}$	11,0	72,3	0	16,7	574	11,0
$cap^I_{6-1} mei1-140 \times diu^I_{-301h^-}$ (Ko)	58,6	28,2	1,3	11,9	1266	59,9
$diu^I_{-301} 10_{ugEB}$	19,7	58,5	2,2	19,6	229	21,9
$diu^I_{-301} 20_{ugEB}$	5,9	87,9	0,8	5,4	962	6,7
$diu^I_{cap^I_{1-1}} mei1-140 \times 50h^-$ (Ko)	7,9	30,3	1,6	60,2	788	9,5
$50h^- 10_{ugEB}$	18,0	29,3	1,3	51,4	838	19,3
$50h^- 20_{ugEB}$	14,3	54,5	1,6	27,6	715	17,9

Tab. 12a

diu/ery - Transmission (%) in cis - Kreuzungen

Kreuzung	D ^R E ^R P	D ^S E ^S P	D ^R E ^S R	D ^S E ^R R	Kol.	Transmission D ^R E ^R
diu ^r ery ^r -102mei1-140 leu ⁻ x 50h ade	7,5 2,1	50,4 30,8	5,1 2,8	37,0 64,3	706 760	12,6 44,5 4,9 66,4
diu ^r ery ^r -102mei1-140 leu ⁻ x his2-245h	7,7 2,1	73,2 73,3	5,9 3,4	13,2 21,2	220 562	13,6 20,9 5,5 23,3
diu ^r ery ^r -102mei1-140 ade ⁻ leu ⁻ x his2-245h	21,9 7,2	47,2 72,3	6,7 1,8	24,2 18,7	608 1039	28,6 46,1 9,0 25,9
diu ^r ery ^r -105h ⁻ ade ⁻ x mei1-102 ura arg	10,3	66,5	8,5	14,7	855	18,8 25,0
diu ^r ery ^r -111h ⁻ ade ⁻ x mei1-102 ura arg	12,4	68,3	8,1	11,2	975	20,5 23,6
diu ^r ery ^r -115h ⁻ ade ⁻ x mei1-102 ura arg	3,5	86,3	8,0	2,2	626	11,5 5,7
diu ^r ery ^r -125h ⁻ ade ⁻ x mei1-102 ura arg	1,5	89,5	4,7	4,3	786	6,2 5,8
						12,4 37,9 x

Tab. 12b

diu/ery - Transmission (%) in cis - Kreuzungen

Kreuzung	D ^R E ^R P	D ^S E ^S P	D ^R E ^S R	D ^S E ^R R	Kol.	Transmission D ^R E ^R
diu ^r ery ^r -100h ⁻ ade ⁻ x mei1-140 leu	4,2 27,6 23,7 36,3 9,5 12,7	87,7 43,9 44,3 30,0 74,6 71,7	2,5 9,7 8,3 12,3 3,7 4,7	5,6 18,8 23,7 21,4 12,2 10,9	285 1018 350 653 656 639	6,7 9,8 37,3 45,6 32,0 47,4 48,6 57,7 13,2 21,7 17,4 23,6
diu ^r ery ^r -100h ⁻ ade ⁻ x mei1-102 ura ⁻ arg ⁻	11,3 24,2 21,5 19,7 19,9 28,1 9,4	71,7 30,4 31,0 56,8 55,6 57,6 50,9	5,6 16,9 15,7 7,0 7,1 5,4 5,6	11,4 28,6 31,8 16,5 17,4 8,9 34,1	1017 2028 1608 1197 851 705 1186	23,1 34,6 x
	*) 19,1+9,2 54,3+18,4 8,0+4,5 18,6+9,0					26,3 38,3 x

*) : Mittelwert + Standardabweichung

Tab. 12b, Fortsetzung

Kreuzung	$D_{P}^{R,R}$	$D_{P}^{S,S}$	$D_{R}^{S,S}$	$D_{R}^{S,R}$	Kol.	Transmission $D_{D}^{R} \quad E_{E}^{R}$
$diu^{I_{ery}}-102h^{-}ade^{-}$	9,9	55,3	6,8	28,0	760	16,7 37,9
x mei1-140 leu	4,8	84,8	0,9	9,5	105	5,7 14,3
	4,4	66,2	7,8	21,6	679	12,2 26,0
	19,1	49,8	3,2	27,9	770	22,3 47,0
	36,8	30,1	8,7	24,4	299	45,5 61,2
	0,1	82,2	0,3	17,4	735	0,4 17,5
	3,3	80,1	1,4	15,2	703	4,7 18,5
					$\bar{x}$	23,6 33,0
$diu^{I_{ery}}-102h^{-}ade^{-}$	3,7	82,7	8,3	5,3	711	12,0 9,0
x mei1-102	6,9	69,8	3,1	20,2	391	10,0 27,1
	18,0	61,9	3,9	16,2	562	21,9 34,2
	13,2	72,2	2,9	11,7	891	16,1 24,9
	11,0	77,2	4,6	7,2	237	15,6 18,2
	5,6	64,9	2,5	27,0	1340	8,1 32,6
	12,4	45,6	21,7	20,3	474	34,1 32,7
	14,4	54,6	8,9	22,1	1322	23,3 36,5
	38,0	52,9	4,1	5,0	121	42,1 43,0
	10,7	79,4	4,2	5,7	456	14,9 16,4
	$11,3+10,0$		$5,2+4,4$			$\bar{x}$
		$63,3+16,5$		$20,1+12,7$		20,1 27,8

Tab. 12b, Fortsetzung

Kreuzung	$D_{E^R}^R$ P	$D_{E^S}^S$ P	$D_{E^S}^R$ R	$D_{E^R}^S$ R	Kol.	Transmission D^R E^R
$diu^R ery^R-108h^-ade^-$ x meil-140	13,1 17,0 35,7 9,3 15,2 30,5	59,0 47,6 47,3 77,5 66,3 46,0	4,7 4,9 4,6 3,9 1,2 4,9	23,2 30,5 12,4 9,3 1,3 18,6	595 1061 129 257 421 613	17,8 36,3 21,9 47,5 40,3 48,1 13,2 18,6 16,4 32,5 35,4 49,1 25,7 38,1 $\bar{x}$
$diu^R ery^R-108h^-ade^-$ x meil-102	8,1 14,9 13,4 26,9 24,7 27,5 35,2 29,7 41,0 17,7 35,3 57,2 25,1 $_{+12,8}$	63,2 52,3 55,2 60,5 25,8 42,1 38,7 54,4 41,7 69,1 35,4 35,8 51,0 $_{+13,4}$	6,3 5,4 5,0 3,6 19,3 9,1 6,7 6,1 7,2 3,5 8,1 4,0 6,0 $_{+3,8}$	12,4 27,4 26,4 9,0 30,2 21,3 19,4 9,8 10,1 9,7 21,2 3,0 17,3 $_{+8,2}$	888 241 201 636 295 1068 790 377 139 372 482 271	14,4 20,5 20,3 42,3 18,4 39,8 30,5 35,9 44,0 54,9 36,6 48,8 41,9 54,6 35,8 39,5 48,2 51,1 21,2 27,4 43,4 56,5 61,2 60,2 34,7 44,3 $\bar{x}$

Tab. 12b, Fortsetzung

Kreuzung	D_E^R P	D_E^S P	D_E^S R	D_E^R R	Kol.	Transmission D^R E^R
$diu^R ery^R-120h^-ade^-$ x $mei1-140$	17,2 13,2 15,9 31,0	64,7 51,7 48,2 36,9	7,4 10,6 8,4 14,0	10,7 24,5 27,5 18,1	122 151 823 171	24,6 23,8 24,3 45,0 25,9 37,8 $\bar{x}$
$diu^R ery^R-120h^-ade^-$ x $mei1-102$	6,8 27,3 12,8 15,1 26,4 18,7 32,3 19,1+8,2	80,6 55,2 73,3 51,8 53,3 57,9 44,6 57,8+13,3	8,1 6,5 3,5 8,9 7,1 11,6 11,6 8,6+2,9	4,5 11,0 10,4 24,2 13,2 11,8 11,5 14,5+7,4	619 1079 875 720 295 1112 913	14,9 33,8 16,3 24,0 33,5 30,3 43,9 33,9 35,1 $\bar{x}$
$diu^R ery^R-120h^-ade^-$ x $diu^R ery^R-120 mei1-102 arg^-$	12,1	75,8	5,5	6,6	289	17,6 18,7
Mittelwert aller D/E-cis-Kreuzungen						22,1 28,3

Tab. 12c

Zusammenfassung der Mittelwerte aus den cis-Kreuzungen
 $D_{Eh}^{R,R-} \times D_{E}^{S,S}meil$

	$D_{E}^{R,R}$ P	$D_{E}^{S,S}$ P	$D_{E}^{R,S}$ R	$D_{E}^{S,R}$ R	Anzahl der Kreuzungen
$diu^I ery^I$ -105	10,3	66,5	8,5	14,7	1
-111	12,4	68,3	8,1	11,2	1
-115	3,5	86,3	8,0	2,2	1
-125	1,5	89,5	4,7	4,3	1
-108	25,1+12,8	51,0+13,4	6,0+3,8	17,3+8,2	18
-100	19,1+9,2	54,3+18,4	8,0+4,5	18,6+9,0	13
-120	19,1+8,2	57,8+13,3	8,6+2,9	14,5+7,4	12
-102	11,3+10,0	63,3+16,5	5,2+4,4	20,1+12,7	23
	12,8	67,1	7,1	12,9	

Tab. 13a diu/ery-Transmission (%) in trans-Kreuzungen

Kreuzung	D ^R S ^S P	D ^S E ^R P	D ^R E ^R R	D ^S E ^S R	Kol.	Transmission D ^R E ^R	
diu ^r -301h ⁻ ade ⁻ x ery ^r -16-12B me11-102 ura ⁻ arg ⁻	26,2 6,7 32,8 26,9 28,9 45,5	50,4 49,2 60,1 39,8 63,6 31,8	1,3 1,6 3,6 12,0 2,6 1,7	22,1 42,5 3,5 21,3 4,9 21,0	1045 193 1047 108 781 409	27,5 8,3 36,4 38,9 31,5 47,2 31,6 53,0 x	51,7 50,8 63,7 51,8 66,2 33,5
diu ^r -301h ⁻ ade ⁻ x ery ^r -114 me11-102 lys ⁻	48,9 39,7 42,5 45,7	39,0 44,4 46,1 43,4	4,0 6,1 4,2 4,0	8,1 9,8 7,2 6,9	454 572 1942 477	52,9 45,8 46,7 49,7 48,8 47,8 x	43,0 50,5 50,3 47,4
diu ^r -301h ⁻ ade ⁻ x ery ^r -102 me11-140 leu ⁻	39,6 9,8 33,8 38,5	54,1 65,2 50,3 50,1	2,8 5,8 14,5 11,1	3,5 19,2 1,4 0,3	1160 379 586 875	42,4 15,6 48,3 49,6 39,0 63,5 x	56,9 71,0 64,8 61,2
diu ^r -301h ⁻ ade ⁻ x ery ^r -100 me11-102 arg ⁻ ura ⁻	31,2 36,9 40,7	64,3 47,5 47,6	1,6 2,1 4,6	2,9 13,5 7,1	1083 629 1254	32,8 39,0 45,3 39,0 55,9 x	65,9 49,6 52,2

Tab. 13a, Fortsetzung

Kreuzung	R_E^S D _E P	S_E^R D _E P	R_E^R D _E R	S_E^S D _E R	Kol.	Transmission D^R E^R
$diu^I-301h^-ade^-x$	44,3	53,5	1,0	1,2	1741	45,3 54,5
$ery^I-120\ mei1-102\ ura^-$	43,3	49,6	1,3	5,8	676	44,6 50,9
arg^-	33,0	64,9	1,0	1,1	1124	34,0 65,9
	45,2	52,9	1,0	0,9	871	46,2 53,9
	44,5	53,8	0,8	0,9	1125	45,3 54,6
	27,3	62,1	1,4	9,2	490	28,7 63,5
						40,7 57,2 $\bar{x}$
Mittelwerte der Kreuzungen $diu^Ih^-x\ ery^I\ mei1$:						
						39,8 55,5

$ery^I-110h^-lys^-x$						
$diu^I-122\ mei1-102\ arg^-$	33,7	56,4	3,3	6,6	676	36,9 59,7
$ery^I-120h^-lys^-x$	26,6	52,5	14,7	6,2	341	41,3 67,2
$diu^I-122\ mei1-102\ arg^-$	32,3	51,2	13,4	3,1	785	45,7 64,6
$ery^I-128h^-lys^-x$						
$diu^I-122\ mei1-102\ arg^-$	39,9	57,5	0,4	2,2	1201	40,3 57,9
$ery^I-130h^-lys^-x$						
$diu^I-122\ mei1-102\ arg^-$	36,4	55,6	1,0	7,0	588	37,4 56,6
$ery^I-110h^-lys^-x$	45,9	48,9	1,4	3,8	366	47,3 50,3
$diu^I\ Mn2-5\ mei1-140\ leu^-$	56,2	37,7	4,3	1,8	509	60,5 42,0
	53,9	40,5	1,7	3,9	460	55,6 42,2
	60,4	28,8	5,5	5,3	545	65,9 34,3
	55,0	40,8	1,9	2,3	464	56,9 42,7
	53,5	39,7	2,5	4,3	441	56,0 42,2
	50,9	46,4	0,7	2,0	444	51,6 47,1

Tab. 13b

Zusammenfassung der Mittelwerte aus den trans-Kreuzungen $D^R \times E^R$

Kreuzung	$D_{E^R}^{R,S}$ P	$D_{E^R}^{S,R}$ P	$D_{E^R}^{R,R}$ R	$D_{E^R}^{S,S}$ R	Anzahl der Kreuzungen
$diu^R_{-301h^-} \times$					
$ery^R_{-16-12B} \text{ mei1}$	27,8 $\pm$ 12,6	49,2 $\pm$ 12,0	3,8 $\pm$ 4,1	19,2 $\pm$ 14,2	6
$ery^R_{-114} \text{ mei1}$	44,2 $\pm$ 4,0	43,2 $\pm$ 3,0	4,6 $\pm$ 1,0	8,0 $\pm$ 1,3	4
$ery^R_{-102} \text{ mei1}$	30,4 $\pm$ 14,0	54,9 $\pm$ 7,1	8,6 $\pm$ 5,2	6,1 $\pm$ 8,8	4
$ery^R_{-100} \text{ mei1}$	36,3 $\pm$ 4,8	53,1 $\pm$ 9,7	2,8 $\pm$ 1,6	7,8 $\pm$ 5,3	3
$ery^R_{-120} \text{ mei1}$	39,6 $\pm$ 7,6	56,1 $\pm$ 5,9	1,1 $\pm$ 0,2	3,2 $\pm$ 3,5	6
$diu^R_{-122} \text{ mei1} \times$					
$ery^R_{-110h^-}$	33,7	56,4	3,3	6,6	1
$ery^R_{-120h^-}$	29,5 $\pm$ 4,0	51,9 $\pm$ 0,9	14,0 $\pm$ 0,9	4,6 $\pm$ 2,2	2
$ery^R_{-128h^-}$	39,9	57,5	0,4	2,2	1
$ery^R_{-130h^-}$	36,4	55,6	1,0	7,0	1
$diu^R_{Mn2-5} \text{ mei1} \times$					
$ery^R_{-110h^-}$	55,4 $\pm$ 4,5	38,4 $\pm$ 5,8	2,6 $\pm$ 1,5	3,5 $\pm$ 1,3	11
$ery^R_{-128h^-}$	56,1 $\pm$ 3,7	35,9 $\pm$ 3,8	2,1 $\pm$ 1,0	5,8 $\pm$ 1,6	12
$ery^R_{-130h^-}$	55,7 $\pm$ 2,3	41,2 $\pm$ 2,9	1,9 $\pm$ 1,5	1,3 $\pm$ 0,9	11

Tab. 14a

diu/cap - Transmission (%) in trans - Kreuzungen

Kreuzung	$D_C^R S_P$	$D_C^R P$	$R_C^R D_C^R$	$R_C^R R$	$D_C^R S_R$	Kol.	Transmission D_C^R	Transmission R_C^R
$cap^R_{16-1} \text{ mei1-140 leu}^-$	59,2 82,0	25,3 0,6	0 0,06	15,5 17,4	336 689	59,2 82,1	25,3 0,7	$\bar{x}$
$cap^R_{110} \text{ mei1-102 arg}^-$	83,6 81,8 78,2 79,7	1,1 1,3 9,4 12,9	0 0 0 0	15,3 16,9 12,4 7,4	891 703 458 542	83,6 81,8 78,2 79,7	1,1 1,3 9,4 12,9	$\bar{x}$
$cap^R_{1-3C} \text{ ana}^S-8 \text{ mei1-102}$	42,2 50,0 69,3	2,6 9,0 7,4	3,9 1,5 1,4	51,3 39,3 21,9	230 400 215	46,1 51,5 70,7	6,5 10,5 8,8	$\bar{x}$
$cap^R_{1-3} \text{ mei1-140 leu}^-$	52,6 58,6	16,5 10,2	11,3 9,3	19,6 21,9	297 430	63,9 67,9	27,8 19,5	$\bar{x}$
$cap^R_{15-1} \text{ mei1-140 leu}^-$	58,6 50,8	17,5 6,9	9,4 2,8	14,5 39,5	331 547	68,0 53,6	25,9 9,7	$\bar{x}$

Tab. 14a, Fortsetzung

Kreuzung	$D_{C^R}^{R_C}$ P	$D_{C^R}^{S_C}$ P	$D_{C^R}^{R_C}$ R	$D_{C^R}^{S_C}$ R	Kol.	Transmission D^R C^R
$diu_{C-301h}^{I-ade^-} \times$ $cap_{-5-2\ meil-140\ leu}^-$	44,4 62,8	23,4 7,7	11,9 4,1	20,3 25,4	261 543	56,3 35,3 66,9 11,8 61,6 23,6 $\bar{x}$
$diu_{C-301h}^{I-ade^-} \times$ $cap_{Mn1-2\ meil-140\ leu}^-$	47,1 47,7 53,4 51,8 60,9 61,3 53,5 58,4 78,6 53,0 66,4	37,1 35,2 30,6 34,0 28,0 23,7 32,4 23,1 10,7 28,5 17,4	3,8 4,9 12,1 5,7 5,8 7,2 6,5 5,0 0,9 8,1 8,9	12,0 12,2 3,9 8,5 5,3 7,8 7,6 13,5 9,8 10,4 7,3	399 551 232 353 343 359 417 580 327 421 304	50,9 40,9 52,6 40,1 65,5 42,7 57,5 39,7 66,7 33,8 68,5 30,9 60,0 38,9 63,4 28,1 79,5 11,6 61,1 36,6 75,3 26,3 63,7 33,6 $\bar{x}$
Mittelwerte der Kreuzungen $diu_{C-301h}^{I-ade^-} \times cap_{meil-140\ leu}^-$						
$cap_{Mn1-2h}^{I-ade^-} \times$ $diu_{-122\ meil-102\ arg}^-$	72,9 75,6 96,4 71,6 75,3 79,2 72,6 77,6 75,3	13,1 18,3 0,5 12,6 2,6 1,5 2,6 1,4 4,3	1,6 0 0 0,3 0 0 0 0 0	12,4 6,1 3,1 15,5 22,1 19,3 24,8 21,0 20,4	435 553 587 767 627 590 470 415 938	74,5 14,7 75,6 18,3 96,4 0,5 71,9 12,9 75,3 2,6 79,2 1,5 72,6 2,6 77,6 1,4 75,3 4,3 77,6 6,5 $\bar{x}$

Tab. 14a, Fortsetzung

Kreuzung	$D_{C^R}^R$ P	$D_{C^R}^R$ P	$D_{C^R}^R$ R	$D_{C^R}^R$ R	Kol.	D^R	Transmission C^R
$cap^I_{Mn1-2h^-}leu^- \times$ $diu^I_{I-122}mei1-102\ arg^-$	81,6 81,9 90,9 86,1	4,3 1,8 4,6 0,5	1,6 0 0,3 0,7	12,5 16,3 4,2 12,7	184 226 285 403	83,2 81,9 91,2 86,8 85,8	5,9 1,8 4,9 1,2 3,5
$cap^I_{I-1-3h^-}ade^- \times$ $diu^I_{Mn1-1}mei1-140\ leu^-$	88,9 95,3	8,1 0,1	0,6 0	2,4 4,6	172 1099	89,5 95,3 92,4	8,7 0,1 4,4
$cap^I_{I-5-1h^-}ade^- \times$ $diu^I_{Mn1-1}mei1-140\ leu^-$	88,1 86,7 94,0	8,5 10,6 0,4	0 0 0	3,4 2,7 5,6	295 939 669	88,1 97,3 94,0 93,1	8,5 10,6 0,4 6,5
$cap^I_{I-6-1h^-}ade^- \times$ $diu^I_{Mn1-1}mei1-140\ leu^-$	98,3 97,2 94,9	0,3 0,4 0	0 0,8 0	1,4 1,6 5,1	347 505 938	98,3 98,0 94,9 97,1	0,3 1,2 0 0,5
Mittelwerte der Kreuzungen $cap^I_{h^-} \times diu^I_{mei1}$:							89,2 4,3

Tab. 14b

Zusammenfassung der Mittelwerte aus den trans-Kreuzungen $C^R \times D^R$

Kreuzung	$D^R C^S$ P	$D^S C^R$ P	$D^R C^R$ R	$D^S C^S$ R	Anzahl der Kreuzungen
$diu^I-301h^- \times$					
$cap^I 6-1\ meil$	70,6 $\pm$ 16,1	13,0 $\pm$ 17,5	0	16,5 $\pm$ 1,3	2
$cap^I 110\ meil$	80,8 $\pm$ 2,0	6,2 $\pm$ 5,9	0	13,0 $\pm$ 4,2	4
$cap^I 1-3C\ meil$	53,8 $\pm$ 14,0	6,3 $\pm$ 3,3	2,3 $\pm$ 2,4	37,5 $\pm$ 14,8	3
$cap^I 1-3\ meil$	55,6 $\pm$ 4,2	13,4 $\pm$ 4,5	10,3 $\pm$ 1,4	20,8 $\pm$ 1,6	2
$cap^I 5-1\ meil$	54,7 $\pm$ 5,5	12,2 $\pm$ 7,5	6,1 $\pm$ 4,7	27,0 $\pm$ 17,7	2
$cap^I 5-2$	53,6 $\pm$ 13,0	15,6 $\pm$ 11,0	8,0 $\pm$ 5,5	22,9 $\pm$ 3,7	2
$cap^I Mn1-2\ meil$	57,5 $\pm$ 9,2	27,3 $\pm$ 8,0	6,3 $\pm$ 2,9	8,9 $\pm$ 3,0	11
$diu^I-122\ meil \times$					
$cap^I Mn1-2h\ ade^-$	77,4 $\pm$ 7,5	6,3 $\pm$ 6,5	0,2 $\pm$ 0,5	16,1 $\pm$ 7,5	9
$cap^I Mn1-2h\ leu^-$	85,1 $\pm$ 4,4	2,8 $\pm$ 2,0	0,7 $\pm$ 0,7	11,4 $\pm$ 5,1	4
$diu^I Mn1-1\ meil \times$					
$cap^I 1-3h^-$	92,1 $\pm$ 4,5	4,1 $\pm$ 5,7	0,3 $\pm$ 0,4	3,5 $\pm$ 1,6	2
$cap^I 5-1h^-$	89,6 $\pm$ 3,9	6,5 $\pm$ 5,4	0	3,9 $\pm$ 1,5	3
$cap^I 6-1h^-$	96,8 $\pm$ 1,7	0,2 $\pm$ 0,2	0,3 $\pm$ 0,5	2,7 $\pm$ 2,1	3

Tab. 15a

diu/cap - Transmission (%) in cis - Kreuzungen

Kreuzung	$\begin{smallmatrix} R \\ D \end{smallmatrix} \begin{smallmatrix} R \\ C \end{smallmatrix}$ P	$\begin{smallmatrix} S \\ D \end{smallmatrix} \begin{smallmatrix} S \\ C \end{smallmatrix}$ P	$\begin{smallmatrix} R \\ D \end{smallmatrix} \begin{smallmatrix} S \\ C \end{smallmatrix}$ R	$\begin{smallmatrix} S \\ D \end{smallmatrix} \begin{smallmatrix} R \\ C \end{smallmatrix}$ R	Kol.	$\begin{smallmatrix} R \\ D \end{smallmatrix} \begin{smallmatrix} R \\ C \end{smallmatrix}$ Transmission
diu ^R cap ^R 1-1 mei1-140 leu ⁻ x 50h ⁻ ade	0 0	86,7 93,6	12,0 6,2	1,3 0,2	150 531	12,0 1,3 6,2 0,2 9,1 0,8 $\bar{x}$
diu ^R cap ^R Mn1-1h ⁻ ade ⁻ x mei1-140 leu	1,5 0 0 0	83,4 97,1 95,4 81,9	12,1 1,6 3,1 10,9	3,0 1,3 1,5 7,2	266 451 982 238	13,6 4,5 1,6 1,3 3,1 1,5 10,9 7,2 6,0 2,9 $\bar{x}$
diu ^R cap ^R Mn2-1h ⁻ ade ⁻ x mei1-140 leu	0 0	82,6 86,6	15,2 6,5	2,2 6,9	346 291	15,2 2,2 6,5 6,9 7,7 3,0 $\bar{x}$
diu ^R cap ^R Mn2-2h ⁻ ade ⁻ x mei1-140 leu	3,3 0	91,7 90,5	3,3 7,1	1,7 2,4	460 342	6,6 5,0 7,1 2,4 4,6 2,5 $\bar{x}$

Tab. 15a, Fortsetzung

Kreuzung	$D_{C^R}^{R^R}$ P	$D_{C^S}^{S^S}$ P	$D_{C^S}^{R^S}$ R	$D_{C^R}^{S^R}$ R	Kol.	Transmission $D_{C^R}^{R^R}$ C^R
$diu^R cap^R Mn2-3h^- ade^-$ x meil-140 leu	0	83,3	16,7	0	324	16,7 0
$diu^R cap^R Mn2-5h^- ade^-$ x meil-140	0	83,7	9,3	7,0	543	9,3 7,0
$diu^R cap^R Mn2-6h^- ade^-$ x meil-140	0	84,0 63,7	12,0 34,5	4,0 1,8	500 355	12,0 4,0 34,5 1,8
$diu^R cap^R Mn2-8h^- ade^-$ x x meil-140 leu	13,3 0,3	80,0 86,4	6,7 8,0	0 5,3	315 324	20,0 13,3 8,3 5,6
$diu^R cap^R -110h^- ade^-$ x x meil-140 leu	0 0	86,4 92,5 95,7	11,1 5,7 4,3	2,5 1,8 0	874 495 1023	11,1 2,5 5,7 1,8 4,3 0
	0	92,3	7,3	0,4	1057	7,3 0,4
	0	96,1	2,4	1,5	661	2,4 1,5
	0	99,6	0,2	0,2	687	0,2 0,2
						$\bar{x}$ 5,2 1,1
$diu^R cap^R -111h^- ade^-$ x x meil-140 leu	0 0 0	97,0 74,8 90,8	3,0 25,2 7,0	0 0 2,2	526 263 604	3,0 0 25,2 0 7,0 2,2

Tab. 15a, Fortsetzung

Kreuzung	$D_{C^R}^R$ P	$D_{C^S}^S$ P	$D_{C^S}^R$ R	$D_{C^R}^S$ R	Kol.	Transmission $D_{C^R}^R$	$\bar{x}$
$diu^R cap^R-111h_ade^-$ $x\ meil-102\ ura\ arg^-$	0 0 0	88,5 98,4 93,9	11,5 0,7 4,8	0 0,9 1,3	756 883 541	11,5 0,7 4,8	0 0,9 1,3
						8,7	0,7 $\bar{x}$
$diu^R cap^R-122h_ade^-$ $x\ meil-140\ leu_arg^-$ $x\ meil-102\ ura\ arg^-$	0 0 0 0 0,1	88,7 82,9 92,9 97,0 88,8	6,1 16,7 7,1 0,9 8,0	5,2 0,4 0 2,1 3,1	326 502 495 1038 716	6,1 16,7 7,1 0,9 8,1	5,2 0,4 0 2,1 3,2
						7,8	2,2 $\bar{x}$
$diu^R cap^R-134h_ade^-$ $x\ meil-140\ leu_arg^-$ $x\ meil-102\ ura\ arg^-$	0,1 0 0 0	83,5 98,5 98,7 92,2	15,6 1,3 0,9 5,8	0,8 0,2 0,4 2,0	716 1024 911 450	15,7 1,3 0,9 5,8	0,9 0,2 0,4 2,0
						5,9	0,9 $\bar{x}$

Tab. 15a, Fortsetzung

Kreuzung	$D_{C,R}^{R,R}$ P	$D_{C,S}^{S,S}$ P	$D_{C,R}^{R,S}$ R	$D_{C,R}^{S,R}$ R	Kol.	Transmission $D_{C,R}^{R,R}$
mel1-102 μ ra ⁻ arg ⁻ x diu ⁻ cap ⁻ -101h ⁻ ade ⁻						
-104	0,1	85,0	6,3	2,6	954	6,4 2,7
-124	0,1	90,1	7,7	1,5	1078	7,8 1,6
-125	0,2	86,7	5,3	2,1	1035	5,5 2,3
-126	0	84,4	9,1	1,8	659	9,1 1,8
-127	0	88,1	1,9	3,4	472	1,9 3,4
-132	0,4	83,0	8,1	3,4	234	8,5 3,8
	0	81,4	7,3	2,7	659	7,3 2,7
Mittelwerte aller diu/cap-cis-Kreuzungen:						6,5 1,9

Tab. 15b

Zusammenfassung der Mittelwerte aus den cis-Kreuzungen $D_C^R \times D_C^S$

Kreuzung	D_C^R P	D_C^S P	D_C^S R	D_C^R R	Anzahl der Kreuzungen
$diu_{cap}^R 1-1mei1$ $\times 50h$	0	$90,2 \pm 4,9$	$9,1 \pm 4,1$	$0,8 \pm 0,6$	2
$mei1-102 \times$ $diu_{cap}^R Mn1-1h$	$0,4 \pm 0,8$	$89,5 \pm 7,9$	$6,9 \pm 5,3$	$3,3 \pm 2,7$	4
$Mn1-2h$	0	$90,6$	$9,4$	0	1
$Mn2-1h$	0	$84,6 \pm 2,8$	$10,9 \pm 6,2$	$4,6 \pm 3,3$	2
$Mn2-2h$	$1,7 \pm 2,3$	$91,1 \pm 0,8$	$5,2 \pm 2,7$	$2,1 \pm 0,5$	2
$Mn2-3h$	0	$83,3$	$16,7$	0	1
$Mn2-5h$	0	$83,7$	$9,3$	$7,0$	1
$Mn2-6h$	0	$73,9 \pm 14,4$	$23,3 \pm 15,9$	$2,9 \pm 1,6$	2
$Mn2-8h$	$6,8 \pm 9,2$	$83,2 \pm 4,5$	$7,4 \pm 0,9$	$2,7 \pm 3,7$	2
$diu_{cap}^R -110h$	0	$93,8 \pm 4,5$	$5,2 \pm 3,8$	$1,1 \pm 1,0$	6
-111h	0	$90,6 \pm 8,6$	$8,7 \pm 8,9$	$0,7 \pm 0,9$	6
-122h	$0,02 \pm 0,04$	$90,1 \pm 5,3$	$7,8 \pm 5,7$	$2,2 \pm 2,1$	5
-134h	$0,03 \pm 0,05$	$93,2 \pm 7,2$	$5,9 \pm 6,8$	$0,9 \pm 0,8$	4

Tab. 16

neo/ery-Transmission (%) in trans-Kreuzungen

Kreuzung	R_E^S N _P	S_E^R N _P	R_E^R N _R	S_E^S R	KOL.	Transmission N^R E^R
neo ^{I-1} h ⁻ ade ⁻ x ery ^{I-114} mel11-102 lys ⁻	15,5	61,7	1,0	21,8	665	16,5 62,7
neo ^{I-2} h ⁻ ade ⁻	14,8	64,0	1,9	19,3	684	16,7 65,9
-3	18,0 28,8 16,3	65,4 58,4 65,5	3,0 0,2 0,4	13,6 12,6 17,8	943 713 913	21,0 68,4 29,0 58,6 16,7 65,9
	13,7 _{-0,8}	63,0 _{+3,0}	1,3 _{+1,2}	17,0 _{+3,9}		22,2 64,3 $\bar{x}$
neo ^{I100-1h} ade ⁻ x ery ^{I-114} mel11-102 lys ⁻	19,5	44,6	2,9	33,0	348	22,4 47,5
neo ^{I100-6h} ade ⁻	9,4 8,2 21,3 0,9 1,0 7,7 3,3 5,3 6,5 6,6 17,7 19,5	48,8 50,6 51,8 58,2 53,9 47,9 47,6 48,9 50,3 49,8 53,9 52,1	2,3 3,6 3,0 3,7 3,9 2,1 2,3 2,5 3,1 3,5 5,9 0	39,5 37,6 23,9 37,2 41,2 42,3 46,8 43,3 40,1 40,1 22,5 28,4	684 772 197 545 854 678 299 527 352 663 204 190	11,7 51,1 11,8 54,2 24,3 54,8 4,6 61,9 4,9 57,8 9,8 50,0 5,6 49,9 7,8 51,4 9,6 53,4 10,1 53,3 23,6 59,8 19,5 52,1
Mittelwerte der trans-Kreuzungen:	9,3 _{-7,2}	51,6 _{+3,4}	3,0 _{+1,3}	36,6 _{+7,5}		13,8 55,6

Tab. 17

Kreuzung	$\frac{R_E^R}{N_E^P}$	$\frac{S_E^S}{N_E^P}$	$\frac{R_E^S}{N_E^R}$	$\frac{S_E^R}{N_E^R}$	Kol.	Transmission
$x_{ery}^r-1h^{-}ade^{-}x_{mei1-140-2}$	8,9 15,5	79,2 69,2	3,6 0,6	8,3 14,7	361 530	12,5 16,1 17,2 30,2
Mittelwerte	$12,2 \pm 4,7$	$74,2 \pm 7,1$	$2,1 \pm 2,1$	$11,5 \pm 4,5$		$14,3 \pm 3,7$

Tab. 18

neo/diu - Transmission (%) in trans - Kreuzungen

Kreuzung	$N^R_D S_P$	$N^S_D R_P$	$N^R_D R_R$	$N^S_D S_R$	Kol.	Transmission $N^R_D R_R$
neo ^r -1h ⁻ ade ⁻						
-2	6,4	55,5	10,6	27,5	781	17,0 66,1
-3	1,3	73,0	3,4	22,3	381	4,7 76,4
x diu ^r -72 mei11-140 leu ⁻	6,0	57,9	10,0	26,1	806	16,0 67,9
	4,6±2,8		8,0±4,0			
		62,1±9,5		25,3±2,7		
neo ^r 100-1h ⁻ ade ⁻						
101-1	17,2	46,3	7,9	28,6	203	25,1 54,2
102-2	0	59,7	1,9	38,4	159	1,9 61,6
103-1	2,9	60,6	0,2	36,3	383	3,1 60,8
103-3	2,3	59,0	3,4	35,3	266	5,7 62,4
104-4	1,2	58,6	3,4	36,8	387	4,6 62,0
105-1	8,3	47,0	10,6	34,1	132	18,9 57,6
108-1	0	70,0	2,5	27,5	280	2,5 72,5
108-3	1,6	57,8	4,7	35,9	364	6,3 62,5
109-1	1,5	61,7	3,3	33,5	391	4,8 65,0
109-16	1,0	57,2	3,5	38,3	201	4,5 60,7
x diu ^r -72 mei11-140 leu ⁻	2,5	61,7	5,7	30,1	282	8,2 67,4
	3,5±5,1		4,3±2,9			
		58,1±3,2		34,1±3,8		
Mittelwerte der trans-Kreuzungen:						8,8 64,1

Tab. 19

neo/diu - Transmission (%) in cis - Kreuzungen

Kreuzung	N ^R _D ^R P	N ^S _D ^S P	N ^R _D ^S R	N ^S _D ^R R	Kol.	Transmission N ^R _D ^R
diu ^r neo ^r -101h ⁻ ade ⁻ x						
x mei1-140 leu ⁻	2,5	63,2	21,2	13,1	791	23,7 15,6
x mei1-102 ura ⁻ arh ⁻	11,3	86,7	0,9	1,1	540	12,2 12,4
	6,9±6,2		11,1±14,4			
		75,0±16,6		7,1±8,5		
mei1-140 leu ⁻ x						
x diu ^r neo ^r -1-ih ⁻ ade ⁻						
2-1	5,4	3,3	48,3	43,0	249	53,7 48,4
3-1	4,3	1,2	55,5	39,0	164	59,8 43,3
	5,1	0,5	52,6	41,8	194	57,7 46,9
	5,8	29,3	62,5	2,4	504	68,3 8,2
3-2	13,0	1,3	55,8	29,9	254	68,8 42,9
	16,5	11,7	60,7	11,1	521	77,2 27,6
	13,9	9,2	76,6	0,3	316	87,5 14,2
3-3	7,3	29,8	60,3	2,6	251	67,6 9,9
3-5	10,0	4,4	78,8	6,8	339	88,8 16,8
5-1	3,8	1,0	57,4	37,8	209	61,2 41,6
7-1	12,6	0,5	47,7	39,2	214	60,3 51,8
7-2	24,5	8,4	50,4	16,7	514	74,9 41,2
9-1	5,5	3,2	62,7	28,6	226	68,2 34,1
9-2	6,3	1,5	53,9	38,3	206	60,2 44,6
	26,6	17,7	48,7	7,0	358	75,3 33,6

Tab. 19, Fortsetzung

Kreuzung	$N^R_D R$ P	$N^S_D S$ P	$R^S_D S$ N ^R D ^S R	$N^S_D R$ R	Kol.	Transmission $N^R_D R$
mei1-140 leu ⁻ -x x diu ⁻ neo ⁻ 9-3h ⁻ ade ⁻	8,4	0,4	47,1	44,1	297	55,5
	18,1	31,4	43,8	6,7	305	61,9
9-4	9,2	0	48,1	42,7	239	57,3
	13,9	20,4	44,2	21,5	373	58,1
9-5	14,2	0	57,5	28,3	213	71,7
	19,7	20,9	53,1	6,3	320	72,8
10-1	3,1	1,3	60,0	35,6	225	63,1
10-2	3,7	1,5	52,9	41,9	272	56,6
10-3	3,3	3,3	56,8	37,4	243	59,3
10-4	0	2,9	58,9	38,2	434	58,9
10-5	5,5	0,6	53,8	40,1	327	59,3
11-1	9,6	1,9	50,0	38,5	304	59,6
11-2	12,7	0,7	58,6	28,0	254	71,3
11-3	8,8	1,1	49,7	40,4	393	58,5
11-4	8,7	1,6	55,6	34,1	326	64,3
	10,0±6,6	7,0±9,8	55,4±8,0	27,6±15,0		
Mittelwerte der cis-Kreuzungen:						66,8
						36,0

Tab. 20, Fortsetzung

Kreuzung		Transmission	
		N ^R	E ^R
ery ^I -114 mei1-102 lys ⁻ x diu ^I neo ^I 101-5h ⁻ ade ⁻		77,2	62,0
		91,2	72,2
	109-16	72,5	54,2
		98,1	43,5
		84,8	58,0
			33,4 x
diu ^I -301h ⁻ ade ⁻ x neo ^I ery ^I -3 mei1-102 lys ⁻		88,0	42,0
	-4	91,3	44,5
	-6	86,7	48,6
	-4 mei1-140 leu ⁻	0,2	50,0
diu ^I 72 mei1-140 leu ⁻ x neo ^I ery ^I -1h ⁻ ade ⁻ ₋₂		42,1	71,6
		49,2	73,5
		45,1	60,1
			45,6 x
diu ^I ery ^I -102 mei1-140 leu ⁻ x neo ^I -1 h ⁻ ade ⁻ ₋₂ ₋₃		18,7	50,4
		21,5	48,2
		14,0	74,6
		18,1	57,7
			54,8 x

Tab. 21

Haploidisierung von Fusionsprodukten
ade7-50h⁻ / his2-245h⁻
(Marker-Aufspaltung)

Nr.	ade HIS	ADE his	ADE HIS	ade his	Kol.
1	57,3	0,4	41,2	1,1	274
2	71,6	13,6	11,4	3,4	273
3	82,3	4,4	11,1	2,2	396
4	88,0	3,6	6,0	2,4	110
5	69,1	29,8	0,8	0,3	363
6	82,1	17,0	0,7	0,2	459

Haploidisierung von Fusionsprodukten
diu^r-122 ade7-50h⁺ / ery^r-114 ura1-171h⁺
(Marker-Aufspaltung)

Nr.	ade URA	ADE ura	ADE URA	ade ura	Kol.
1	0,3	1,4	98,0	0,3	397
2	0,7	0,7	97,9	0,7	272
3	18,8	4,1	52,1	25,0	607
4	0,3	1,3	97,9	0,5	381
5	0,2	1,7	97,9	0,2	522
6	0,2	1,6	97,7	0,5	633
7	0,4	1,5	97,7	0,4	270
8	0,2	2,4	97,2	0,2	454
9	0,8	2,7	96,1	0,4	263
10	4,3	2,5	92,7	0,5	444

Tab. 22

Vergleich der Marker-Transmission
in Fusionskreuzungen mit Standardkreuzungen

Fusionsprodukte	Anzahl geprüft	D ^R E ^S P	D ^S E ^R P	D ^R E ^R R	D ^S E ^S R
diu ^r -301h ⁻ ade ⁻ /					
ery ^r -128h ⁻ lys ⁻	35	48,6	40,0	2,8	8,6
	103	54,5	29,5	4,9	11,1
vgl. Standardkr.					
diu ^r -301h ⁻ ade ⁻ x		42,5	46,1	4,2	7,2
ery ^r -114 mei1 lys ⁻		46,7	44,4	5,3	3,6
		50,3	34,7	4,7	10,3
		50,9	38,2	5,3	5,6
		44,8	35,1	4,9	15,2
		39,7	44,4	6,1	9,8
diu ^r -122 mei1 arg ⁻ /					
ery ^r -100 mei1 ade ⁻	29	40,2	34,7	0,6	24,5
ery ^r -114h ⁺ ura ⁻ /					
diu ^r -122h ⁺ ade ⁻	58	46,9	49,0	0,04	4,1
diu ^r -301h ⁻ ade ⁻ /					
ery ^r -100 mei1 arg ⁻	9	21,8	63,0	0	15,2
vgl. Standardkr.					
diu ^r -301h ⁻ ade ⁻ x		31,2	64,3	1,6	2,9
ery ^r -100 mei1 arg ⁻		36,9	47,5	2,1	13,5
Fusionsprodukte	Anzahl geprüft	D ^R E ^R P	D ^S E ^S P	D ^R E ^S R	D ^S E ^R R
diu ^r ery ^r -100h ⁻ lys ⁻ /					
50h ⁻ ade ⁻	19	31,2	58,4	10,0	0,4
vgl. Standardkr.					
diu ^r ery ^r -100h ⁻ ade ⁻ x		27,6	43,9	9,7	18,8
mei1-140 leu ⁻		23,7	44,3	8,3	23,7
		36,3	30,0	12,3	21,4
		12,7	71,7	4,7	10,9

II. Analogie mitochondrialer Kreuzungen zu Bakteriophagenkreuzungen, das Dujon-Modell und seine Einschränkungen

1. BAKTERIOPHAGENKREUZUNGEN - MITOCHONDRIALE KREUZUNGEN

In den vierziger Jahren entdeckte man Mutanten von Bakteriophagen, die sich vom Wildtyp-Phagen durch unterschiedliche Größe oder Beschaffenheit der Plaques auszeichneten. Infiziert man Bakterienzellen mit zwei verschiedenen Bakteriophagen-Mutanten, findet man unter der Nachkommenschaft nicht nur Plaques der beiden Parental-typen, sondern auch "Wildtyp"- und "Doppelmutanten"-plaques.

Die Phagen-DNS-Moleküle paaren sich in der Bakterienzelle und können miteinander rekombinieren. Rekombinationsereignisse zwischen Bakteriophagenmolekülen finden in der Wirtszelle mehrfach statt, bis die parentale oder rekombinante Phagen-DNS in die Phagenköpfe verpackt wird. Visconti und Delbrück (1953) formulierten daraus eine Theorie der genetischen Rekombination in Bakteriophagenkreuzungen: Die Phagengenome paaren sich mehrmals nacheinander in einem intrazellulären "mating pool". Die Anzahl an Rekombinanten unter den Phagennachkommen hängt nicht nur von der Kopplung der Mutantengene, sondern auch von der Anzahl der Paarungsergebnisse zwischen heterologen DNS-Molekülen ab, die bis zur Verpackung der Phagen-DNS stattfinden können.

Ähnlich kann man sich die Situation in einer Hefezygote vorstellen; die mtDNS-Moleküle der beiden Kreuzungspartner entsprechen den Phagen-DNS-Strängen. Während man jedoch in Phagenkreuzungen durch die Phagenmultiplizität (= Anzahl der Phagen, die pro Bakterienzelle zur Infektion eingesetzt werden) die Rekombinationsfrequenz expe-

rimentell steuern kann, ist es in mitochondrialen Kreuzungen nicht so ohne weiteres möglich, den "input", d.h. den prozentualen Anteil mtDNS-Moleküle der beiden Elternstämme zu verändern.

Dujon et al. (1974) haben das Modell der Bakteriophagenkreuzungen auf mitochondriale Kreuzungen der Bäckerhefe übertragen. Es besagt, daß der "input" den "output", d.h. die Häufigkeiten von Parental- und Rekombinantenzellen unter den Nachkommen bestimmt.

Methoden zur Input-Variation bei *S.cer.* sind bekannt:

- Zerstörung von mtGenomen und damit Induktion zur rho-Mutation durch UV-Bestrahlung (Dujon et al., 1975) oder durch EB (Kao und Perlman, pers. Mitt.)
- Hemmung der Kern-DNS-Synthese und damit durch Verzögerung der Zellteilung Anreicherung der mtDNS durch HU (Dujardin et al., 1978; Birky et al., 1978), durch Glucoserepression (Birky, 1975; Böker et al., 1976) und durch α -Hormon (Birky et al., 1978).
- Erhöhung des mtDNS-Gehalts, z.B. durch die Mutation rho5 (Birky, 1975), durch Kreuzungen von diploiden Zellen mit haploiden (Demko und Perlman, 1975).

In der Zygote kommt es durch Auflösung und Fusion der Mitochondrien zur Vereinigung der mtGenome beider Parentalstämme. Dabei paaren sich in aufeinanderfolgenden Paarungsrunden sowohl homologe (d.h. DNS-Moleküle desselben Kreuzungspartners) als auch heterologe (d.h. Moleküle der beiden unterschiedlichen Kreuzungspartner) Moleküle. Die optimale Rekombinationsfrequenz wird bei einem Input-Verhältnis der parentalen Genome von 50% : 50% erhalten. Das Übergewicht eines Partners bezüglich seines Inputs bedingt zunehmende Chancen für homologe

Paarungen und damit ein Absinken heterologer Paarungsereignisse. Und nur deren Rekombinationsergebnisse tauchen im output als Rekombinantentypen auf. Das Vorkommen homologer Paarungen erklärt auch, daß die maximale Rekombinationshäufigkeit statt der erwarteten 50% nur 25% ausmacht.

2. ABHÄNGIGKEIT DER REKOMBINATIONSFREQENZ VON DER TRANSMISSION NACH EB-BEHANDLUNG DER KREUZUNGSPARTNER

Viele Methoden zur Variation des mitochondrialen Inputs (s.Pkt.1) scheiden für Untersuchungen bei *Sch.pombe* aus: α -Hormon, ein diffusibler Sexfaktor, konnte bisher in *Sch.pombe*-Zellen nicht entdeckt werden (Egel, pers. Mitt.), Glucoserepression zeigt keine Wirkung auf die mitochondriale Transmission (Wolf und Kaudewitz, 1977), Mutanten mit erhöhtem mtDNS-Gehalt sind nicht bekannt und triploide Kreuzungsprodukte zeigen hohe Letalität. Keine der UV-Dosen, bei denen noch Zygotenbildung stattfinden kann, und keine HU-Konzentration, bei der noch Zellvermehrung möglich ist, führt zu einer signifikanten Transmissionsverschiebung (Hasse, Diplomarbeit 1979). So bleibt als Mittel der Wahl zur Input- und damit Rekombinationsbeeinflussung Behandlung der Zellen mit EB (Wirkung siehe Teil I,6).

Zwei-Faktor-Kreuzungen $diu^r-301 ade7-50h^- \times ery^r-114 mel1-102 lys4-95$ wurden nach Standardbedingungen durchgeführt. Davor wurden die Stämme jeweils 24 Stunden in Glucose-Flüssigmedium mit den entsprechenden EB-Konzentrationen (5-50 $\mu\text{g/ml}$) gezogen, zur Entfernung des Mutagens 2-mal gewaschen und auf synthetischem Sporulationsagar gekreuzt. Die Häufigkeit der Rekombinantentypen $D^R E^R$ und $D^S E^S$ wurde ermittelt und gegen die Transmission der Diuronresistenz aufgetragen (Fig.13).

Die Untersuchungen zeigen, daß bei der Analyse von Zygotenpopulationen und deren diploiden Nachkommen die im Dujon-Modell aufgestellte Beziehung auch für *Sch.pombe* gilt. Dujon et al. finden in homosexuellen *S.cer.*-Kreuzungen maximale Rekombinationswerte bei je 50% Trans-

mission beider Marker. Die Rekombinationsfrequenz läßt sich dann unter Berücksichtigung verschiedener Parameter (input mtGenome, durchschnittliche Anzahl an Paarungsrunden, Wahrscheinlichkeit des genetischen Austausches) als parabolische Funktion der Transmissionshäufigkeit der einzelnen Marker darstellen (Dujon et al., 1974; Backhaus, 1977). Das ist als Computeranalyse in Figur 14 dargestellt. Die Kurve wurde nach folgendem Ansatz bestimmt:

$$\text{RECO} = 2 \times \text{DIUR} (1 - \text{DIUR}) (1 - e^{-k})$$

mit RECO = Anzahl der Rekombinanten in %

DIUR = Häufigkeit der diu^r -Transmission in %

Es handelt sich um eine Parabel mit den Voraussetzungen: Maximum bei ca. 50%, Anfangs- und Endpunkt bei 0 und 100% Resistenztransmission. Das Annäherungsprinzip ist das Minimum des Abstandsquadrats der Meßwerte von der Kurve.

Zwei weitere Versuche, das Dujon-Modell auf eine Kreuzung in cis-Konfiguration ($\text{D}^{\text{RER}} \times \text{D}^{\text{SES}}$) und für eine andere Markerkombination ($\text{D}^{\text{R}} \times \text{C}^{\text{R}}$) anzuwenden, zeigt Fig. 15.

Trägt man die beiden Rekombinantenklassen gegeneinander auf, so findet man eine direkte Korrelation zwischen doppelt Resistenten und Sensitiven (Fig. 16B). Da aber die Klasse der Doppelsensiblen über die Doppelresistenten überwiegt, beträgt die Steigung der Geraden, die man durch die Meßpunkte legen kann, nicht 45° , sondern weniger.

In einer Population von Zygotenklonen sind die beiden Rekombinationsklassen zwar nicht zahlenmäßig gleich, aber Kovarianz zwischen beiden Klassen besteht, wenn die Transmission der Kreuzungspartner durch EB variiert wird.

3. TRANSMISSION MITOCHONDRIALER MARKER IN ZYGOTENKLONEN

In Standardkreuzungen mit diu^r - und ery^r -Stämmen, die die Transmissionshäufigkeit eines bestimmten Markers aus dem Durchschnitt der Transmissionswerte vieler diploider Nachkommen mehrerer 100 Zygoten ermitteln, zeigt die diploide Nachkommenschaft zu je ca. 50% Transmission der entsprechenden Allele (ery^r , ery^s ; diu^r , diu^s); der mitochondriale Input beider Parentalstämmen ist in etwa gleich. Dafür gibt es zwei mögliche Erklärungen:

- Die Nachkommen jeder einzelnen Zygote sind zu je ca. 50% vom Phänotyp des Resistenz- bzw. Sensitivitätsallels.
- Das Verhältnis der beiden Elterntypen ist in den einzelnen Zygotenklonen unterschiedlich, aber der Durchschnitt ergibt wieder in etwa eine 1:1 - Verteilung der beiden Allele.

Um zwischen diesen beiden Möglichkeiten zu entscheiden, wurden Zygotenklonanalysen ausgeführt:

Die Stämme werden in Glucosemedium vorgezogen, gemischt, in KCl gewaschen und auf Sporulationsagar zur Zygotenbildung gegeben. Nach 18-24 Stunden Inkubation bei Raumtemperatur wird das Kreuzungsgemisch auf EMM + Phloxin zur Selektion prototropher Zygoten plattiert. Nach Bebrütung werden einzelne Kolonien, die jeweils einen Zygotenklon darstellen, in KCl suspendiert. Daraus werden auf Glucose + Phloxin etwa 500 Kolonien pro Klon plattiert. Nach Stempeln auf Glycerin und die entsprechenden Antibiotikamedien kann man die Verteilung der Resistenz- und Sensitivitätsallele ermitteln. Gleichzeitig mit den Zygotenklonanalysen werden aus jedem Kreuzungsgemisch Standardkreuzungen (siehe Teil I, Pkt. 3) zur Transmissionsbestimmung mit Resistenzmarker der Gesamtpopulation durchgeführt.

Einzelne Zygotenklone wurden aus Kreuzungen, die die mitochondrialen Resistenzen A^R , E^R , D^R , C^R und N^R aufweisen (Tab.23-27) analysiert. Die Untersuchungen zeigen, daß die einzelnen Zygoten das Resistenzallel sehr unterschiedlich transmittieren. Bei D^R geht die Transmissionsbreite über den gesamten Bereich von 0-100% (Tab.25), bei E^R ist das Verteilungsspektrum ähnlich (1,5-90,4%, Tab.24). Die restlichen drei Resistenzmarker scheinen gegenüber dem sensiblen Allel benachteiligt: bei A^R und N^R liegt das Transmissionsmaximum für Einzelzygoten bei ca.50%, bei C^R ist es - wie auch schon in den Standardkreuzungen - extrem niedrig (bis ca.25% C^R -Transmission, Tab.26). Die Ausnahme bildet eine einzige unter 105 geprüften Zygoten mit 91,2% Resistenztransmission (Tab.26, 2. Ansatz).

Daß es sich beim Transmissionsmuster annähernd um eine Gauß-Verteilung handelt, wird aus den Balkendiagrammen deutlich, in denen die Transmissionshäufigkeiten der Resistenzmarker (hier diu^r und ery^r) in 5%-Intervalle unterteilt sind (Fig.17).

Die Transmissionswerte eines bestimmten Markers schwanken für individuelle Zygotenklone aus einer Kreuzung zwischen 0 und 100%. Man findet eine Gauß-Verteilung um mittlere Transmissionshäufigkeiten (ca.50%) und zwei zusätzliche Maxima bei sehr niedrigen (0-5%) und sehr hohen (95-100%) Werten.

4. UNIPARENTALE VERERBUNG

In Zygotenklonanalysen findet man Zygoten, die für das Resistenz- oder Sensitivitätsallel homoplasmisch geworden sind (weiße Balken in Fig.17). Sie werden als uniparental (UP) bezeichnet, und zwar als uniparental resistent (UPR), wenn sie 100% Transmission des Resistenzallels aufweisen, und als uniparental sensibel (UPS), wenn man nur noch sensitive Zellen in der diploiden Nachkommenschaft findet.

Zum Nachweis dieser uniparentalen Vererbung gibt es zwei Methoden:

- Zygoten werden in entsprechender Verdünnung plattiert, so daß Einzelkolonien entstehen und anschließend auf Antibiotikamedien gestempelt wie unter Pkt.3 beschrieben. Dieser Test ist zwar nicht sehr sensitiv für die Entdeckung von uniparentalen Klonen, da nur 300-500 diploide Kolonien pro Zygote geprüft werden. Auf diese Weise ist es nicht möglich, Allele zu entdecken, die zu weniger als 1% von der Zygote auf ihre Nachkommenschaft transmittiert werden. Genauer berechnet, kann man nach dieser Methode 0,7-3,4% Markertransmission übersehen (Birky et al., 1978).

Dieser Test erlaubt jedoch sowohl uniparental sensible als auch uniparental resistente und biparentale Zygotenklone zu identifizieren.

- Ein sehr sensibler Test zur Identifizierung uniparentaler Klone ist direktes Plattieren auf antibiotikahaltiges Medium, doch können mit seiner Hilfe nur uniparental sensitive Klone entdeckt werden.

Ca. 10^6 diploide Zellen aus jedem individuellen Zygotenklon werden direkt auf der Antibiotikaplatte verteilt. Entsteht keine Kolonie auf dieser Platte, d.h. es ist kei-

ne resistente unter den ca. 10^6 Zellen, wird der Klon als UPS klassifiziert.

Einer der beiden Genotypen wird in UP nicht mehr exprimiert. Die Entscheidung über uniparentale Vererbung wird - wie Befunde an S.cer. zeigen - bereits in der Zygote oder während der ersten nachfolgenden Generationen getroffen. Für ihren Mechanismus gibt es nur Hypothesen:

- Die mtDNS-Moleküle konkurrieren um eine kleine Anzahl von Replikationsstellen an der Membran. Diese Anheftungsstellen werden nur von einem Typ - hauptsächlich dem Majoritätstyp - mtGenome besetzt.
- Die Moleküle werden unterschiedlich markiert (ev. von Modifikationsenzymen). Durch einen "Zählmechanismus" wird die Majoritätsgruppe ausgewählt, selektiv repliziert und die Minoritätsklasse(n) eliminiert (ev. durch Restriktionsnukleasen).

(Birky, 1975)

Auf ähnliche Phänomene in anderen Organismen und die möglichen Parallelen zu anderen Systemen soll in der Diskussion eingegangen werden.

5. REKOMBINATION MITOCHONDRIALER MARKER IN ZYGOTEN- KLONEN

In Standardkreuzungen erhält man bestimmte Rekombinationswerte für bestimmte mitochondriale Marker.

Kreuzung	RR	SS	RS	SR
Rekombinantentyp				
$D^R \times E^R$	1,5-6	8-13,5		
$D^{R,E^R} \times D^{S,E^S}$			5,5-11,5	11,5-27,5
$D^R \times C^R$	0	7,5-17		
$N^R \times E^R$	ca.0,2	ca.13		

Hierbei ist wieder dieselbe Frage wie bei der Transmissionshäufigkeit zu stellen. Ist die Anzahl von Rekombinanten unter den Nachkommen jeder Zygote gleich oder zeigen die einzelnen Zygotenkclone unterschiedliche Rekombinantenhäufigkeiten, deren Durchschnitt wieder dem Mittelwert aus Standardkreuzungen entspricht?

Zur Klärung dieser Frage wurden erneut Zygotenkclone, diesmal aus bifaktoriellen Kreuzungen, analysiert. Man erhält diploide Klone, die beide Parental- und beide Rekombinantentypen enthalten, sowie auch solche, denen ein oder beide Parental- bzw. Rekombinantentypen fehlen (Tab.28-34). Die Häufigkeiten der beiden Rekombinantentypen D^{R,E^R} und D^{S,E^S} sind in den Individuellen

Klonen stark gestreut; es treten auch homoplasmische Rekombinantenkclone auf (z.B. $D^R E^R$ in Tab.28, Nr.1, 2.Ansatz; $D^{SE} E^S$ in Tab.30, Nr.20). In der cis-Konfiguration $D^R E^R \times D^{SE} E^S$ schwanken die Rekombinantenfrequenzen ebenso, aber keine der beiden Rekombinantenklassen konnte homoplasmisch gefunden werden.

Eine Ausnahme bilden die Rekombinanten aus Kreuzung $D^R \times C^R$. Wie schon in den Transmissionsversuchen erscheint der doppelt resistente Phänotyp $D^R C^R$ fast überhaupt nicht; das Maximum ist 0,7% in einem individuellen Zygotenklon (Nr. 14 im 1.Ansatz, Tab.33).

Einige Ergebnisse aus den Zwei-Faktor-Zygotenklonanalysen wurden als Balkendiagramme dargestellt (Fig.18-23). Die weiten Schwankungen der Rekombinantenhäufigkeiten in den Einzelklonen werden deutlich, und es fällt auf, daß die doppelt sensible Klasse - bis auf eine Ausnahme (Tab.29, 2.Ansatz) - stets im Überschuß auftritt.

In der Gesamtpopulation gibt es eine deutliche Korrelation zwischen den reziproken Rekombinantenklassen (vgl. Fig.16B), während auf Zygotenebene keinerlei Abhängigkeit zwischen den Rekombinantenklassen besteht (Fig.16A). Im Gegensatz zu den Transmissionswerten ist hier für keine der Rekombinantenklassen eine symmetrische Verteilung um einen Mittelwert zu beobachten.

Warum treten reziproke Rekombinantenklassen nicht in derselben Häufigkeit auf?

Eine Rekombinante entsteht entweder durch ein reziprokes oder ein nichtreziprokes Elementarereignis. Auch im Falle reziproker Rekombination kann es zur bevorzugten Replikation nur eines Molekültyps kommen. Aus

den vorliegenden Ergebnissen läßt sich nichts über das Elementarereignis der Rekombination ableiten, da zwischen Zygotenbildung und Analyse des diploiden Klons viele Generationen liegen.

Die Resultate weisen auch nicht darauf hin, daß ein bestimmter Molekültyp (der resistente) sich im Nachteil befindet. Ein eventueller (Replikations?-)Nachteil liegt höchstens für den cap^r -Marker vor (siehe auch Teil I, Punkt 8). Aber auch da zeigt Zygotenklon Nr.1 im 2.Ansatz der Tab.33 (91,2% cap^r -Transmission), daß ein möglicher Nachteil nicht auf Zygotenebene liegen muß.

Jede Elternkonfiguration kann uniparental werden. Homozygote Zellen treten dann in verstärktem Maße auf, wenn ein Ungleichgewicht im mitochondrialen Input besteht, z.B. in Zygotenklonanalysen nach EB-Behandlung eines Kreuzungspartners (Hasse, Diplomarbeit 1979) oder in Kreuzungen mit der Mutante $\text{rho}5$ (Thrailkill et al., 1980). Dabei gilt die Regel, daß uniparentale Klone um so häufiger auftreten, je größer das Ungleichgewicht der beiden parentalen Genome ist.

Aber auch Rekombinantentypen liegen homozygot vor. Das bedeutet, der Mechanismus, der zum Homoplasmischwerden führt (Punkt 4!), kann auch Minoritätsklassen erkennen. Befunde in *Chlamydomonas* und *S.cer.* (Birky und Van Winkle-Swift, 1978) deuten darauf hin, daß dieser Mechanismus nicht an einzelnen Markern, sondern eher an ganzen Molekülen angreift, da Klone fast stets für gekoppelte Marker gemeinsam homoplasmisch werden.

6. BEEINFLUSSUNG DER REKOMBINATIONSHÄUFIGKEIT DURCH AUSSCHALTUNG DER MITOCHONDRIALEN PROTEINSYNTHESE

Bei *S.cer.* wurde gefunden, daß mitochondriale Genome auch in Abwesenheit mitochondrialer Proteinsynthese rekombinieren, d.h. ρ^- -Mutanten zeigen Rekombination untereinander (Michaelis, 1973). Außerdem konnte gezeigt werden, daß auch bei Blockierung der mtProteinsynthese durch Antibiotika weiterhin Rekombination erfolgt: Erythromycinsensible Stämme von *S.cer.* wurden auf Glucosemedium + Erythromycin gezogen und gepaart, und die Zygoten dann ebenfalls auf ery-haltiges Medium plattiert, um die mtProteinsynthese zu hemmen und deren Produkte herauszuverdünnen (Strausberg und Birky, 1979). Die Autoren zeigen, daß mtDNS mit normaler Häufigkeit in Zygoten rekombinieren kann, in denen das Antibiotikum die mtProteinsynthese blockiert. Genkonversion und crossing over benötigen also nur Proteine, die an cytoplasmatischen Ribosomen synthetisiert werden.

Da bei *Sch.pombe* keine Mutanten ohne mtProteinsynthese (ρ^-) bekannt sind, wurde der zweite Weg gewählt: Als Hemmstoff wurde Chloramphenicol in der üblicherweise verwendeten Konzentration (2g/l) dem Glucosemedium der Vorkulturen (D_C, E_C), dem Kreuzungsmedium (SPA_C) oder dem Minimalmedium zur Selektion prototropher Diploiden (EMM_C) zugegeben. Die Proteinsynthese wurde also in den Haploiden, während der Zygotenbildung und während des diploiden Wachstums gehemmt.

Zunächst fiel auf, daß die diploiden Kolonien auf EMM_C wesentlich langsamer wachsen als auf EMM ohne cap. Anstatt nach den üblichen 4 Tagen Bebrütung konnten die

Kolonien erst nach 8-10 Tagen abgestempelt werden.

Aber Chloramphenicol im Medium bringt keine signifikante Änderung der Häufigkeiten der Rekombinanten aus der Kreuzung $du^+h^- \times ery^+mei1$: 12,2% Rekombinanten in der Kontrollkreuzung, 14,8% bzw. 12,1% nach Abschalten der mtProteinsynthese durch das Antibiotikum im Medium (Tab.35).

Daraus ist zu schließen, daß auch bei *Sch.pombe* zur Rekombination mtGenome keine mitochondriale Proteinsynthese nötig ist.

ZUSAMMENFASSUNG ZU TEIL II

Ebenso wie bei *Saccharomyces cerevisiae* gilt für mitochondriale Populationen von *Schizosaccharomyces pombe* das Dujon-Modell, das einen Zusammenhang zwischen Transmission und Rekombination beschreibt. Das konnte durch Ethidiumbromid-Behandlung der haploiden Kreuzungspartner vor der Kreuzung sowie durch die natürlichen Schwankungsbereiche in mitochondrialen Kreuzungen gezeigt werden.

Dabei muß eine wichtige Einschränkung gemacht werden: Die einzelne Zygote und ihre diploide Nachkommenschaft spiegeln nicht die Situation in der Population wider, da die Transmissionswerte der mitochondrialen Resistenzmarker von 0-100%, auch für Rekombinanten, schwanken. Unter den Nachkommen einer Zygote können ein oder beide Parental- bzw. Rekombinantenklassen fehlen. Individuelle Zygotenklone können für einen Genotyp homoplasmisch werden (uniparentale Vererbung). Das gilt auch für die doppelt resistente Rekombinantenklasse, die sonst immer unter den Rekombinanten in der Minderheit ist. Das Ausfallen von Genotypen kann durch selektive Replikation eines Molekültyps und gleichzeitiger Ausverdünnung oder Zerstörung des/der anderen erklärt werden.

Auch durch Blockierung der mtProteinsynthese mit Hilfe von Chloramphenicol in den Medien zur Kreuzung unter Standardbedingungen konnte gezeigt werden, daß wie bei *S.cer.* Produkte der mitochondrialen Proteinsynthese nicht zur Rekombination mtGenome notwendig sind.

FIGUREN UND TABELLEN ZU TEIL II

(Die Zahlenangaben in den Tabellen sind als Prozente ausgedrückt.)

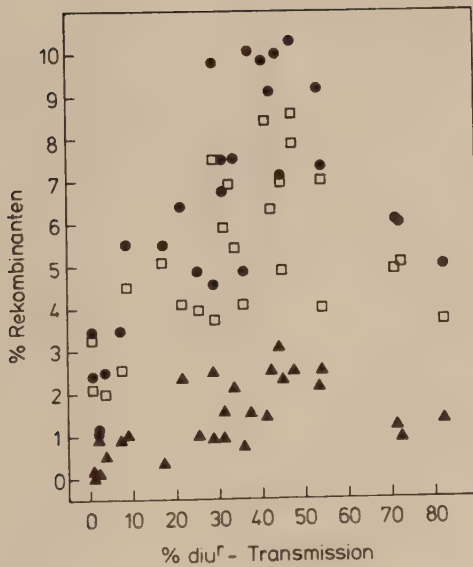


Fig. 13: Abhängigkeit der Rekombinationshäufigkeit von der diu^r -Transmission in Kreuzungen $diu^r-301 ade7-50h^- \times ery^r-114 mei1-102 lys4-95$

- ▲ $D^R E^R$ - Rekombinanten
- $D^S E^S$ - Rekombinanten
- Gesamtzahl an Rekombinanten

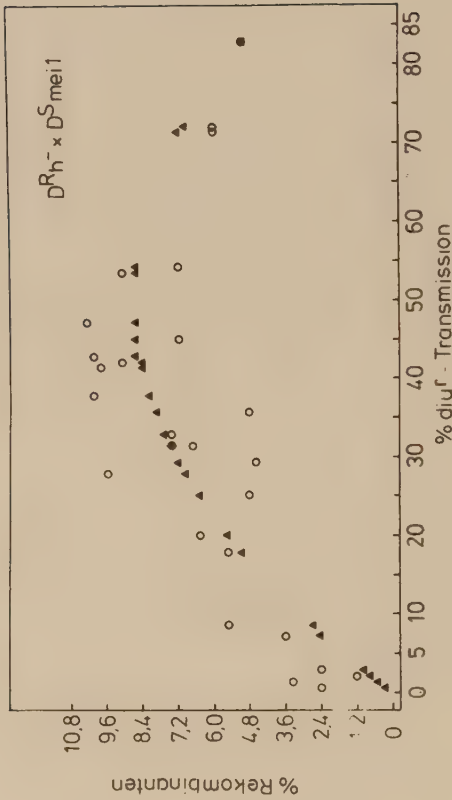


Fig. 14: Computeranalyse zum Beweis des Dujon-Modells: Abhängigkeit der Rekombinationshäufigkeit von der $diuI$ -Transmission in Kreuzungen $diuI^{-}301 ade7-50h^{-} \times eryI^{-}114 mei1-102 lys4-95$

○ Werte aus 26 Kreuzungen (teils nach EB-Behandlung)
 ▲ Computerplot der angenäherten Kurve (weitere Erklärungen im Text)

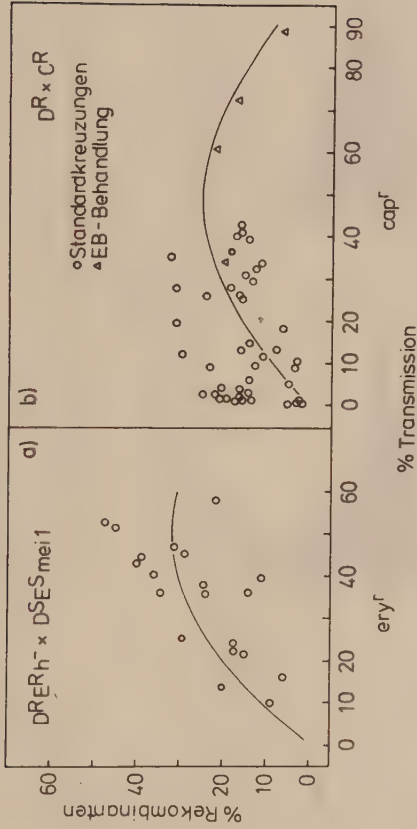


Fig. 15: Abhängigkeit der Rekombinationshäufigkeit von der Transmission mitochondrialer Resistenzen in Kreuzungen

a) $diu^r ery^r -100 ade7-50h^- \times mei1-102 ura1-171 arg1-1$
bzw. $\times mei1-140 leu1-32$

b) $cap^r 6-1 ade7-50h^- \times diu^r -72 mei1-140 leu1-32$



Fig 16. Abhängigkeit der reziproken Rekombinantenklassen $D^S E^S$ und $D^R E^R$ aus Kreuzungen $du^F-301 ade7-50h^- \times ery^F-114 meil-102 lys4-95$

A: Analyse von 99 Einzelzygotenkulturen

B: Analyse von Standardkreuzungen

○ Kreuzungspartner unbehandelt
● ein oder beide Kreuzungspartner EB-behandelt

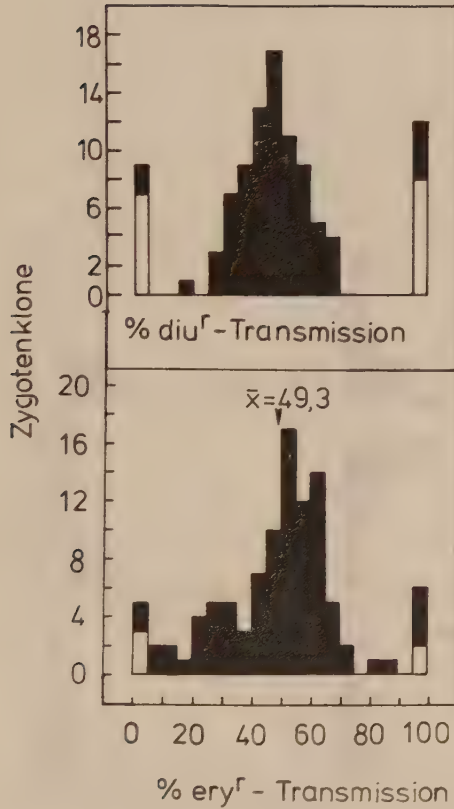


Fig.17: Verteilung der Transmissionshäufigkeiten der mitochondrialen Marker diu^r und ery^r in Zygotenklonen aus Kreuzungen

$diu^r-301 ade7-50h^-$ bzw. $ery^r-120 lys4-95h^-$ x
x $mei1-102 ura1-171 arg1-1$

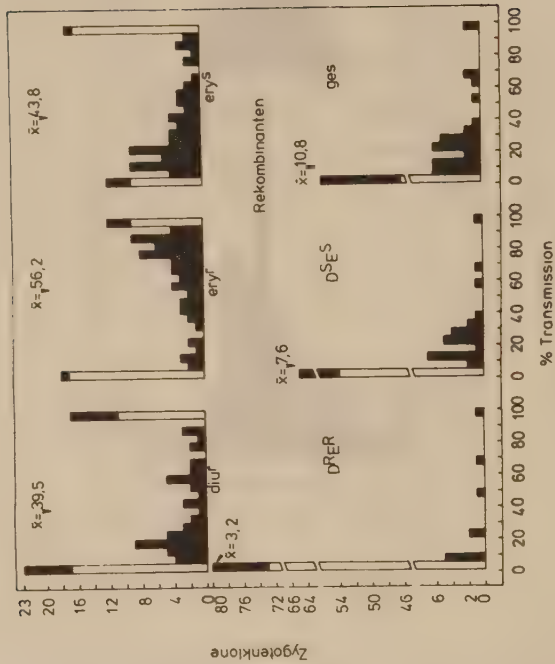


Fig. 18: Verteilung der Transmissionshäufigkeiten der mitochondrialen Marker *diuI*, *eryI* und *eryS* und der Rekombinationshäufigkeiten in Zygotenklonen aus der Kreuzung *diuI*⁻-301 *ade7-50h*⁻ x *eryI*⁻-100 *me1-102 arg1-1* (*Dh*⁻ x *eryI*^R *me1*)

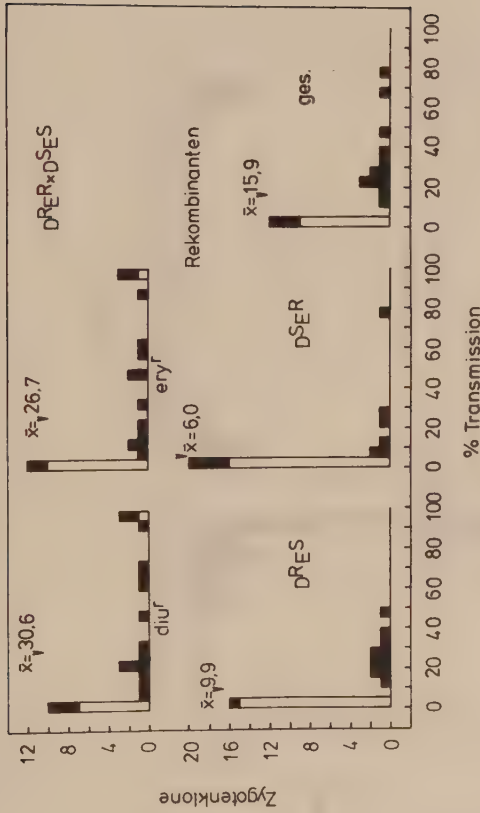


Fig.19 : Transmissionmuster der mitochondrialen Resistenzmarker diu^r und ery^r und Verteilung der Rekombinationshäufigkeiten in Zygotenklonen aus der Kreuzung in *cis*-Konfiguration $diu^r-301\ ery^r-120\ ade7-50h^- \times meil-102\ ural-171\ arg1-1$ ($D^{R_{1h}} \times D^{S_{E}} meil$)

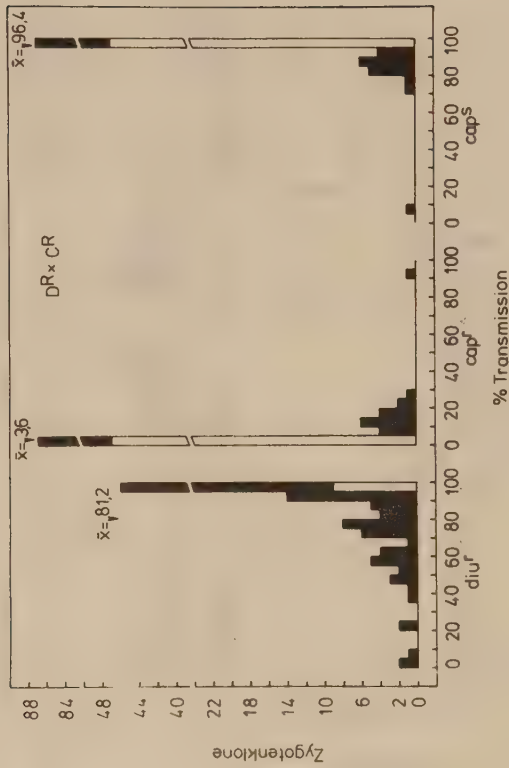


Fig. 20 Transmissionmuster der mitochondrialen Marker diu^I , cap^I und cap^S in Zygotenklonen aus der Kreuzung $diu^I-301 ade7-50h^- \times cap^I-110 mei1-102 arg1-1$ ($D_h^{R-} \times C^{R} mei1$)

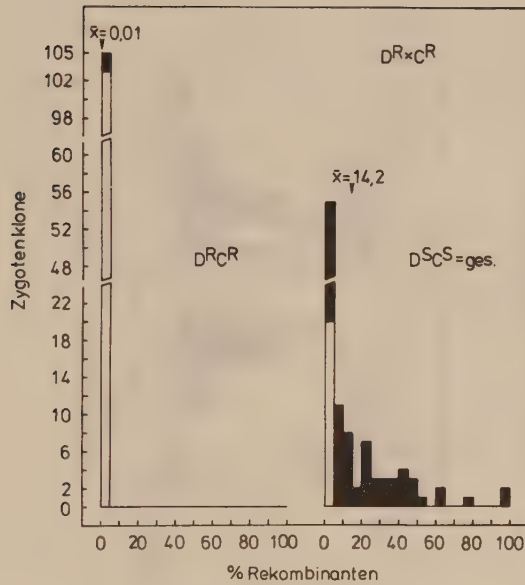


Fig. 21: Dieselbe Kreuzung wie in Fig. 20 beschrieben.
Verteilung der Rekombinationshäufigkeiten in den Zygotenklonen

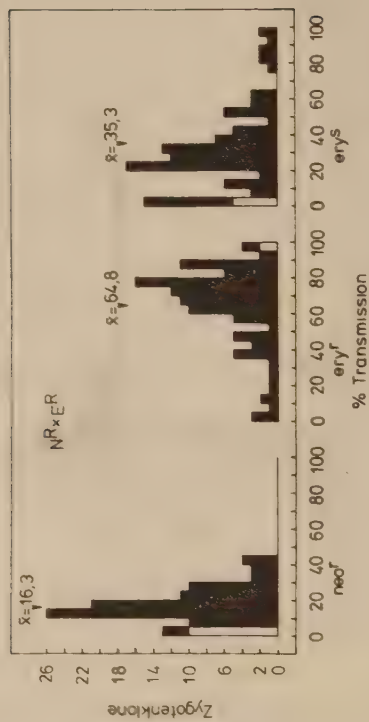


Fig. 22: Transmissionsmuster der mitochondrialen Marker neo^I , ery^I und ery^S in Zygotenklonen aus der Kreuzung $neo^{mut+} ade7-50h^- \times ery^I-114\ meil-102\ lys4-95$ ($N^R \times E^R\ meil$)

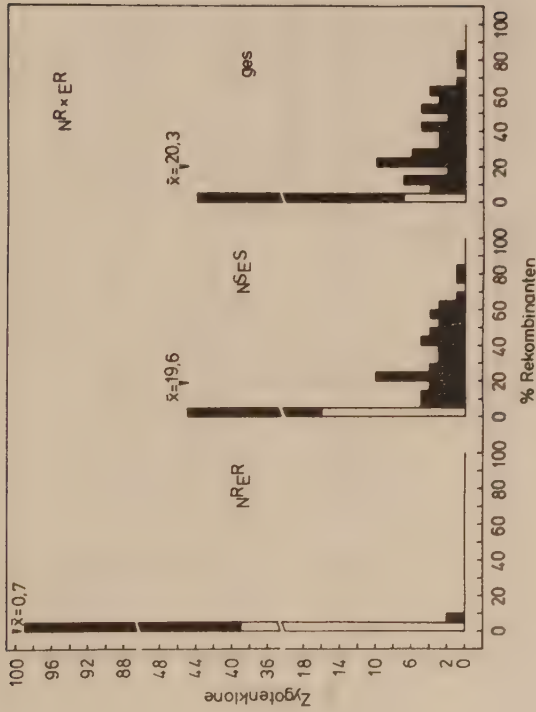


Fig. 23: Dieselbe Kreuzung wie in Fig.22 beschrieben.
Verteilung der Rekombinationshäufigkeiten in den Zygotenklonen

Tab. 23 ana^r- 8 ade 7-50h⁻ x mei 1-102

Zygotenanalysen

Nr.	A ^R	A ^S	Kol.
1-12	0	100	ca. 500
13	5,3	94,7	285
14	8,1	91,9	484
15	12,7	87,3	780
16	24,5	75,5	302
17	30,8	69,2	253
18	34,8	65,2	282
19	41,9	58,1	754
20	46,6	53,4	309
21	48,6	51,4	292
22	49,8	50,2	484
23	50,1	49,9	965

Durchsch. 15,4 84,6

Standard-
kreuzung 17,6 82,4 1151

Tab. 24

ery^r-120h⁻lys⁻ x mei 1-102

Zygotenanalysen

Nr.	E ^R	E ^S	Kol.
1	1,5	98,5	781
2	9,9	90,1	424
3	14,1	85,9	326
4	15,1	84,9	312
5	15,5	84,5	369
6	21,7	78,3	115
7	28,5	71,5	228
8	29,3	70,7	324
9	30,4	69,6	247
10	36,7	63,3	308
11	40,5	59,5	637
12	45,0	55,0	465
13	45,9	54,1	419
14	48,6	51,4	288
15	49,4	50,6	158
16	51,1	48,9	272
17	53,3	46,7	167
18	53,4	46,6	292
19	55,5	44,5	369
20	55,7	44,3	271
21	56,3	43,7	144
22	60,0	40,0	210
23	60,1	39,9	328
24	68,4	31,6	247
25	70,0	30,0	233
26	70,1	29,9	197
27	72,2	27,8	230
28	76,6	23,4	435
29	80,0	20,0	180
30	90,4	9,6	373
Durchsch.	46,8	53,2	
Standard- kreuzung	67,2	32,8	341

Tab. 25

$\text{diu}^{\text{r}}\text{-301h}^{\text{r}} \times \text{mei1-102}$
Zygotenanalysen

1. Ansatz

Nr.	D ^R	D ^S	Kol.
1-3	0	100	ca. 500
4	0,3	99,7	676
5	16,1	83,9	218
6	20,9	79,1	473
7	21,4	78,6	491
8	37,1	62,9	603
9	38,3	61,7	494
10	39,6	60,4	523
11	78,5	21,5	312
12	98,0	2,0	686
13	98,6	1,4	634
Durchsch.	34,5	65,5	
Standard- kreuzung	37,9	62,1	530

2. Ansatz

Nr.	D ^R	D ^S	Kol.
1-8	0	100	ca. 500
9	0,9	99,1	635
10	1,4	98,6	839
11	2,5	97,5	650
12	4,1	95,9	831
13	4,2	95,8	569
14	9,2	90,8	598
15	9,9	90,1	811
16	13,9	86,1	592
17	14,4	85,6	630
18	15,3	84,7	576
19/20	17,0	83,0	ca. 500
21/22	19,6	80,4	ca. 500

Tab. 25, Fortsetzung

Nr.	D ^R	D ^S	Kol.
23	20,0	80,0	744
24	23,6	76,4	513
25	24,7	75,3	563
26	25,2	74,8	640
27	27,8	72,2	722
28/29	28,4	71,6	ca. 500
30	53,1	46,9	597
Durchsch.	12,7	87,3	
Standard- kreuzung	29,8	70,2	601

3. Ansatz

Nr.	D ^R	D ^S	Kol.
1-6	0	100	ca. 500
7	0,2	99,8	843
8	0,4	99,6	768
9	2,2	97,8	737
10	3,1	96,9	483
11	4,7	95,3	450
12	6,6	93,4	754
13	6,8	93,2	692
14	7,1	92,9	505
15	9,0	91,0	420
16	10,9	89,1	457
17	12,3	87,7	187
18	19,4	80,6	669
19	19,5	80,5	529
20	20,0	80,0	724
21/22	22,1	77,9	ca. 500
23	22,6	77,4	473
24	24,1	75,9	681
25	24,2	75,8	683
26	26,9	73,1	539

Tab. 25, Fortsetzung

Nr.	D ^R	D ^S	Kol.
27	30,1	69,9	598
28	32,5	67,5	437
29	39,5	60,5	418
30	94,4	5,6	610
Durchsch.	15,4	84,6	
Standard- kreuzung	39,0	60,1	883

4. Ansatz

Nr.	D ^R	D ^S	Kol.
1-3	0	100	ca. 500
4	5,7	94,3	495
5	9,5	90,5	581
6	9,7	90,3	588
7	13,4	86,6	485
8	15,1	84,9	504
9	15,6	84,4	556
10	16,3	83,7	405
11	18,2	81,8	572
12	18,7	81,3	502
13	20,5	79,5	577
14	20,7	79,3	328
15	21,2	78,8	482
16/17	23,8	76,2	ca. 500
18	24,6	75,4	342
19	28,1	71,9	523
20	28,4	71,6	638
21	29,3	70,7	444
22	31,0	69,0	436
23	36,1	63,9	488
24	37,5	62,5	510
25	44,7	55,3	532

Tab. 25, Fortsetzung

Nr.	D ^R	D ^S	Kol.
26	48,2	51,8	581
27	56,4	43,6	566
28	89,2	10,8	651
29/30	100	0	ca.500
Durchsch.	29,5	70,5	
Standard- kreuzung	43,2	56,6	565

5. Ansatz

Nr.	D ^R	D ^S	Kol.
1-6	0	100	ca.500
7	3,2	96,8	678
8	8,6	91,4	580
9	11,2	88,8	645
10	15,2	84,8	656
11	16,1	83,9	645
12/13	17,4	82,6	ca.500
14/15	20,0	80,0	ca.500
16	21,8	78,2	591
17	26,5	83,5	377
18	31,3	68,7	553
19/20	31,6	68,4	ca.500
21	32,2	67,8	444
22	33,7	66,3	594
23	34,1	65,9	531
24	34,6	65,4	549
25	35,3	64,7	549
26	42,5	57,5	673
27	44,0	56,0	579
28	44,6	55,4	527
29	91,0	9,0	434
30	96,2	3,8	739
Durchsch.	25,3	74,7	
Standard- kreuzung	36,3	63,7	548

Tab. 26

cap^r-110 mei1-102 arg1-1 x ade7-50h⁻
Zygotenklonananalysen

1. Ansatz

Nr.	C ^R	C ^S	Kol.
1-11	0	100	ca.300
12	0,3	99,7	395
13/14	0,4	99,6	ca.300
15/16	0,5	99,5	ca.300
17	0,8	99,2	262
18	1,0	99,0	401
19	1,1	98,9	278
20/21	1,3	98,7	ca.300
22	1,4	98,6	288
23-25	1,5	98,5	ca.300
26/27	1,9	98,1	ca.300
28	2,9	97,1	277
29	3,0	97,0	297
30	6,9	93,1	131
Durchschnitt	0,8	99,2	
Standard- kreuzung	1,1	98,9	891

2. Ansatz

Nr.	C ^R	C ^S	Kol.
1/2	0	100	ca.500
3	0,3	99,7	689
4	0,8	99,2	898
5	4,9	95,1	663
6	5,8	94,2	433
7	7,1	92,9	212
8	8,0	92,0	761
9	11,0	89,0	638

Tab. 26, Fortsetzung

Nr.	C ^R	C ^S	Kol.
10	11,6	88,4	372
11	15,9	84,1	189
12	16,2	83,8	581
13	16,8	83,2	394
14	22,6	77,4	495
15	91,2	8,8	745
Durchsch.	15,4	84,6	
Standard- kreuzung	1,3	98,7	703

3. Ansatz

Nr.	C ^R	C ^S	Kol.
1-17	0	100	ca. 300
18	0,1	99,9	745
19	0,2	99,8	531
20/21	0,3	99,7	ca. 300
22	0,4	99,6	246
23	0,5	99,5	413
24	0,9	99,1	431
25	1,5	98,5	397
26	1,6	98,4	190
27	2,0	98,0	346
28	3,5	96,5	287
29	4,5	95,5	224
30	10,5	89,5	354
Durchsch.	0,8	99,2	
Standard- kreuzung	9,4	90,6	458

Tab. 26, Fortsetzung

4. Ansatz

Nr.	C ^R	C ^S	Kol.
1-17	0	100	ca. 300
18	0,3	99,7	298
19/20	0,5	99,5	ca. 300
21	0,6	99,4	164
22	2,6	97,4	349
23	3,2	96,8	158
24	3,3	96,7	242
25	11,2	88,8	437
26	14,1	85,9	362
27	14,8	85,2	243
28	17,2	82,8	221
29	20,0	80,0	574
30	25,2	74,8	349
Durchsch.	5,3	94,7	
Standard- kreuzung	12,9	87,1	542

Tab. 27

Zygotenklonanalysen
 $neo^r-1h^-ade^- \times mei1-102$

Nr.	N ^R	N ^S	Kol.
1-10	0	100	ca. 300
11	1,4	98,6	274
12	1,8	98,2	400
13	2,5	97,5	235
14	5,9	94,1	340
15	6,1	93,9	229
16	6,5	93,5	400
17/18	7,2	92,8	ca. 300
19	7,6	92,4	251
20	8,3	91,7	445
21	8,5	91,5	377
22	8,8	91,2	293
23	9,4	90,6	356
24/25	10,0	90,0	ca. 300
26	10,1	89,1	719
27	10,5	89,5	285
28/29	10,7	89,3	ca. 300
30	11,1	88,9	304
31-33	11,2	88,8	ca. 300
34/35	11,3	88,7	ca. 300
36/37	11,5	88,5	ca. 300
38	11,8	88,2	511
39	11,9	88,1	262
40	12,5	87,5	440
41	12,6	87,4	390
42	12,8	87,2	339
43/44	12,9	87,1	ca. 300
45	13,5	86,5	223
46/47	13,8	86,2	ca. 300
48	14,3	85,7	296
49	14,5	85,5	359
50	15,4	84,6	552
51	15,6	84,4	318
52	15,9	84,1	415
53/54	16,0	84,0	ca. 300
55	16,2	83,8	309
56	16,4	83,6	347
57/58	16,6	83,4	ca. 300
59/60	16,8	83,2	ca. 300
61	17,1	82,9	334

Tab. 27, Fortsetzung

Nr.	N ^R	N ^S	Kol.
62	17,4	82,6	368
63	17,6	82,4	312
64	18,6	81,4	384
65	18,7	81,3	282
66	18,8	81,2	256
67	19,0	81,0	433
68/69	19,8	80,2	ca. 300
70	19,9	80,1	314
71	20,0	80,0	350
72	20,2	79,8	453
73	20,3	79,7	393
74	21,2	78,8	300
75	21,3	78,7	277
76	21,4	78,6	339
77/78	21,6	78,4	ca. 300
79	22,4	77,6	233
80	22,6	77,4	405
81	23,3	76,7	346
82	25,4	74,6	248
83	26,3	73,7	505
84	26,7	73,3	251
85	27,6	72,4	427
86	28,0	72,0	500
87	28,1	71,9	319
88/89	28,5	71,5	ca. 300
90	29,0	71,0	497
91	29,7	70,3	318
92	31,5	68,5	253
93	32,7	67,3	429
94	35,4	64,6	358
95	35,5	64,5	427
96	36,6	63,4	260
97	40,1	59,9	325
98	40,7	59,3	319
99	43,5	56,5	383
100	43,8	56,2	770
Durchsch.	16,3	85,7	
Standard- kreuzung	29,0	71,0	682

Tab. 28 diu^r-301 x ery^r-114 mei 1
Zygotenanalysen

1. Ansatz

Nr.	D ^R E ^S P	D ^S E ^R P	D ^R E ^R R	D ^S E ^S R	Kol.
1	0	100	0	0	572
2	0	89,1	0	10,9	613
3	0,3	74,6	1,3	23,8	382
4	1,3	67,7	0	31,0	303
5	6,6	93,4	0	0	580
6	7,2	92,8	0	0	469
7	8,4	91,6	0	0	545
8	9,1	9,6	0	81,2	197
9	10,3	89,7	0	0	262
10	11,6	88,4	0	0	475
11	11,8	78,1	10,1	0	365
12	15,5	84,5	0	0	966
13	17,4	56,3	1,7	24,6	684
14	19,2	67,9	0	12,9	557
15	19,7	40,2	3,3	36,8	478
16	20,5	79,5	0	0	356
17	25,4	72,3	0	2,3	260
18	31,3	62,5	6,2	0	403
19	31,4	67,2	1,4	0	277
20	33,8	66,2	0	0	651
21	33,9	32,7	3,5	29,9	566
22	42,5	0	57,5	0	299
23	46,5	0	0	53,5	340
24	46,6	41,7	9,3	2,4	581
25	47,6	52,0	0,4	0	271
26	53,2	46,4	0	0,4	720
27	56,4	15,8	0	27,8	231
28	61,2	0	23,0	15,8	278
29/30	100	0	0	0	ca.500
Durchsch.	31,2	55,7	2,9	10,2	
Standard- kreuzung	48,9	39,0	4,0	8,1	

2. Ansatz

Nr.	D ^R E ^S P	D ^S E ^R P	D ^R E ^R R	D ^S E ^S R	Kol.
1	0	0	100	0	391
2/3	0	100	0	0	576/1023
4	0	99,4	0	0,6	313
5	0	92,7	0	7,3	550
6	0	66,7	0	33,3	66
7	1,7	14,1	84,2	0	234
8	6,6	67,2	0	26,2	622

Tab. 28 , Fortsetzung

Nr.	$D_{P}^{R E S}$	$D_{P}^{S E R}$	$D_{R}^{R E R}$	$D_{R}^{S E S}$	Kol.
9	7,6	15,3	0	77,1	131
10	7,8	92,2	0	0	462
11	7,9	92,1	0	0	644
12	8,6	91,4	0	0	544
13	10,1	89,9	0	0	208
14	10,8	89,2	0	0	519
15	13,1	86,9	0	0	467
16	13,5	86,5	0	0	267
17	13,7	86,3	0	0	677
18	15,7	84,3	0	0	637
19	17,7	75,2	0,2	6,9	651
20	17,9	82,1	0	0	548
21	18,1	81,6	0	0,3	343
22	18,7	81,3	0	0	155
23	19,9	72,8	7,3	0	302
24	20,2	79,8	0	0	84
25	20,2	76,4	2,5	0,9	658
26	20,7	79,0	0	0,3	405
27	21,5	78,5	0	0	438
28	21,7	28,0	0	50,3	558
29	23,8	74,8	0	1,4	341
30	25,2	74,8	0	0	909
31	25,5	59,4	0,6	14,5	165
32	26,2	48,9	24,9	0	568
33	27,1	72,9	0	0	129
34	27,6	72,4	0	0	257
35	28,1	71,0	0	0,9	114
36	31,3	68,7	0	0	502
37	32,3	67,7	0	0	65
38	33,3	5,6	49,1	12,0	108
39	34,5	65,3	0	0,2	620
40	37,1	62,9	0	0	623
41	38,5	0	0	61,5	130
42	39,3	60,7	0	0	122
43	40,9	15,7	30,8	12,6	198
44	42,2	26,0	10,9	20,9	503
45	47,4	52,6	0	0	249
46	51,0	19,9	20,4	8,7	196
47	51,3	5,9	0	42,8	236
48	53,3	26,9	3,8	16,0	394
49	53,7	46,3	0	0	684
50	53,8	40,1	0	6,1	342
51	53,9	25,0	14,5	6,6	76
52	55,4	42,7	1,8	0,1	775
53	56,1	4,6	13,0	26,3	483
54	61,1	2,1	5,8	31,0	190
55	66,3	13,3	8,2	12,2	255
56	69,8	12,3	3,8	14,1	693
57	70,7	0,8	0,8	27,7	259
58	75,6	8,1	16,3	0	123

Tab.28 , Fortsetzung

Nr.	$D_{P}^{R,S}$	$D_{P}^{S,E,R}$	$D_{R}^{R,E,R}$	$D_{R}^{S,E,S}$	Kol.
59	84,5	1,0	14,1	0,4	484
60	91,5	2,1	0	6,4	140
61	94,1	0,7	1,6	3,6	546
62	98,8	0	0	1,2	781
63	98,9	0	0	1,1	263
64	99,7	0	0	0,3	339
65-70	100	0	0	0	ca.500
Durchsch.	41,1	49,2	4,3	5,4	
Standard- kreuzung	39,7	44,4	6,1	9,8	572

Tab. 29 $\text{diu}^{\text{r}}\text{-301} \times \text{ery}^{\text{r}}\text{-100 mei 1-102 arg}^-$
Zygotenanalysen

1. Ansatz

Nr.	$\text{D}^{\text{R}}\text{E}^{\text{S}}$ P	$\text{D}^{\text{S}}\text{E}^{\text{R}}$ P	$\text{D}^{\text{R}}\text{E}^{\text{R}}$ R	$\text{D}^{\text{S}}\text{E}^{\text{S}}$ R	Kol.
1-3	0	100	0	0	ca.300
4	0	99,6	0,4	0	260
5	0	94,2	2,2	3,6	359
6	0	32,4	0	67,6	271
7	0,5	99,5	0	0	618
8	2,3	0	0	97,7	391
9	7,3	79,5	0,1	13,1	667
10	9,9	80,7	9,4	0	213
11	11,6	88,0	0	0,4	250
12	13,3	86,7	0	0	181
13	13,9	86,1	0	0	481
14	15,6	84,4	0	0	339
15	19,6	80,0	0	0,4	230
16	21,4	78,6	0	0	748
17	26,5	73,1	0	0,4	771
18	27,9	46,0	0	26,1	417
19	30,8	69,2	0	0	655
20	35,3	44,7	20,0	0	329
21	47,7	0	50,1	2,2	405
22	92,5	0,1	7,4	0	979
23	94,0	0	6,0	0	547
24	97,2	0	0	2,8	390
25	98,5	0	0	1,5	266
26	98,9	0	0	1,1	359
27-30	100	0	0	0	ca.300
Durchsch.	40,2	50,8	3,4	5,6	
Standard- kreuzung	36,9	47,5	2,1	13,5	629

Tab. 29, Fortsetzung

2. Ansatz

Nr.	$D_{P}^{R,S}$	D_{P}^{S,E^R}	D_{R}^{R,E^R}	D_{R}^{S,E^S}	Kol.
1	0	100	0	0	225
2	0	99,7	0	0,3	348
3	0	89,1	0	10,9	221
4	0	5,0	95,0	0	359
5	0,6	85,8	1,3	12,3	155
6	3,4	58,4	0	38,2	149
7	5,9	94,1	0	0	102
8	7,2	62,1	0	30,7	359
9	8,5	91,5	0	0	236
10	12,3	61,4	5,3	21,0	57
11	14,1	85,9	0	0	206
12	14,2	65,4	20,4	0	436
13	16,7	83,3	0	0	263
14	16,8	83,2	0	0	101
15	20,4	79,3	0	0,3	333
16	20,5	69,0	0	10,5	200
17	20,5	11,4	65,2	2,9	210
18	21,1	17,5	5,3	56,1	57
19	22,7	77,0	0,3	0	291
20	23,6	76,4	0	0	106
21	36,9	63,1	0	0	222
22	68,0	0	0	32,0	225
23	75,7	0	0	24,3	230
24	81,6	18,4	0	0	239
25	82,3	0	2,8	14,9	316
26-30	100	0	0	0	ca. 300
Durchsch.	33,0	51,6	9,2	6,2	

Tab. 29 , Fortsetzung

3. Ansatz

Nr.	$D_{P}^{R,E,S}$	$D_{P}^{S,E,R}$	$D_{R}^{R,E,R}$	$D_{R}^{S,E,S}$	Kol.
1-3	0	100	0	0	ca. 300
4	0	91,7	0	8,3	300
5	0	89,9	0	10,1	316
6	0	78,1	0	21,9	361
7	0	75,1	0	24,9	285
8	0	74,0	0	26,0	177
9	0	73,9	0	26,1	349
10	0	70,5	0	29,5	166
11	11,1	88,9	0	0	235
12	16,0	69,7	0	14,3	287
13	16,7	83,3	0	0	228
14	17,5	82,5	0	0	171
15	42,2	57,8	0	0	275
16	42,3	57,7	0	0	246
17	43,9	56,1	0	0	301
18	47,1	52,9	0	0	255
19	50,3	49,7	0	0	143
20	50,6	49,4	0	0	361
21	55,7	44,3	0	0	158
22	57,2	37,2	0	5,6	409
23	58,7	41,3	0	0	218
24	59,3	40,7	0	0	626
25	62,5	37,5	0	0	269
26	64,4	13,5	0	22,1	163
27	69,2	11,0	0	19,8	291
28	78,5	21,5	0	0	191
29	85,3	14,7	0	0	217
30	100	0	0	0	132
Durchsch.	33,7	59,2	0	7,1	

Tab. 30

diu^r-301 x ery^r-120 mei 1 arg⁻
Zygotenanalysen

Nr.	D ^R E ^S P	D ^S E ^R P	D ^R E ^R R	D ^S E ^S R	Kol.
1	0	100	0	0	400
2	0	91,7	0	8,3	325
3	0	86,7	0	13,3	255
4	0	72,8	0	27,2	727
5	0	63,3	0	36,7	365
6	0	61,2	0	38,8	384
7	0	60,4	0	39,6	781
8	0	58,0	0	42,0	555
9	0	57,3	0	42,7	494
10	0	54,6	0	45,4	919
11	0	53,4	0	46,6	974
12	0	49,4	0	50,6	484
13	0	42,1	0	57,9	378
14	0	41,1	0	58,9	309
15	0	38,3	0	61,7	277
16	0	31,0	0	69,0	597
17	0	29,5	0	70,5	264
18	0	28,1	0	71,9	299
19	0	26,6	0	73,4	571
20	0	0	0	100	1063
21	9,0	91,0	0	0	590
22	23,4	73,2	0	3,4	261
23	24,6	75,4	0	0	439
24	30,5	69,5	0	0	302
Durchsch.	3,6	56,5	0	39,9	
Standard- kreuzung	27,3	62,1	1,4	9,2	490

Tab. 31

diu^rery^r-108 x mei 1-102

Zygotenanalysen

Nr.	D ^R E ^S R	D ^S E ^R R	D ^R E ^R P	D ^S E ^S P	Kol.
1	0	0	0	100	456
2	0	49,3	0	50,7	357
3	0,9	4,1	0,4	94,6	461
4	46,2	0,3	5,0	48,5	299
5	0	1,9	6,8	91,3	962
6	16,7	11,7	7,4	64,2	162
7	0	0	7,9	92,1	623
8	0	0,3	13,0	86,7	392
9	0	12,9	14,6	72,5	651
10	0	2,0	15,3	82,7	450
11	0	1,6	15,8	82,6	488
12	0	7,9	16,9	75,2	516
13	0	0,7	17,1	82,2	461
14	0,1	0	17,1	82,8	832
15	9,1	10,9	20,0	60,0	605
16	0	3,9	20,3	75,8	597
17	0,2	2,4	21,7	75,1	553
18	0	2,8	23,7	73,5	506
19	0	0	23,8	76,2	374
20	0	2,0	25,4	72,6	452
21	0	0,9	26,9	72,2	539
22	0	13,5	27,6	58,9	341
23	0,4	0,2	30,0	69,4	476
24	0	4,7	31,3	64,0	674
25	12,8	0,2	33,2	53,8	494
26	0	0,8	35,9	63,3	591
27	1,2	0,3	39,9	58,6	898
28	0	0,6	40,5	58,9	643
29	0	0,2	43,8	56,0	603
30	0	0	96,2	3,8	364
Durchsch.	2,9	4,5	22,6	70,0	
Standard- kreuzung	5,4	27,4	14,9	52,3	241

Tab. 32

diu^rery^r-120h⁻ade⁻ x mei 1-102

Zygotenanalysen

Nr.	D ^R E ^S R	D ^S E ^R R	D ^R E ^R P	D ^S E ^S P	Kol.
1-7	0	0	0	100	ca.500
8	21,5	0	0	78,5	656
9	0,2	23,9	0	75,9	473
10	25,3	0	0	74,7	554
11	31,1	0	0	68,9	322
12	19,9	0	0,2	79,9	412
13	0	0	0,3	99,7	758
14	0	3,1	3,3	93,6	419
15	0	2,5	8,8	88,7	317
16	0	0	13,6	86,4	645
17	0	1,0	17,8	81,2	483
18	0	75,8	20,4	3,8	339
19	20,3	6,6	25,2	47,9	365
20	38,9	26,9	33,9	0,3	573
21	29,1	10,6	34,9	25,4	677
22	45,4	0	45,4	9,2	679
23	16,5	5,2	50,0	28,3	382
24	10,1	0,3	88,7	0,9	634
25	0	0	95,1	4,9	756
26	0	0	100	0	517
Durchsch.	9,9	6,0	20,7	63,4	
Standard- kreuzung	11,6	11,5	32,3	44,6	913

Tab. 33

$\text{diu}^{\text{r}}-301 \times \text{cap}^{\text{r}}-110 \text{ mei1 arg}^-$

Zygotenanalysen

1. Ansatz

Nr.	$\text{D}^{\text{R}}\text{C}^{\text{S}}$ P	$\text{D}^{\text{S}}\text{C}^{\text{R}}$ P	$\text{D}^{\text{R}}\text{C}^{\text{R}}$ R	$\text{D}^{\text{S}}\text{C}^{\text{S}}$ R	Kol.
1	0,3	0	0	99,7	331
2	49,1	2,9	0	48,0	277
3	58,5	1,3	0	40,2	306
4	59,7	0	0	40,3	347
5	70,0	0	0	30,0	427
6	76,8	0	0	23,2	237
7	76,9	0,4	0	22,7	468
8	78,4	0	0	21,6	218
9	82,3	0,3	0	17,4	395
10	83,7	1,3	0	15,0	240
11	85,4	0	0	14,6	398
12	93,1	6,9	0	0	131
13	93,1	0,8	0	6,1	262
14	95,8	1,4	0,7	2,1	288
15	96,0	3,0	0	1,0	297
16	96,1	1,5	0	2,4	204
17	96,3	1,5	0	2,2	268
18	96,8	0	0	3,2	370
19	97,2	1,9	0	0,9	211
20	97,4	0,5	0	2,1	385
21	97,9	0	0	2,1	340
22	98,1	1,9	0	0	214
23	98,2	0	0	1,8	226
24	98,5	1,5	0	0	135
25	98,6	1,1	0	0,3	278
26	98,8	0,5	0,2	0,5	408
27	99,0	1,0	0	0	401
28	99,2	0,4	0	0,4	449
29	99,4	0	0	0,6	164
30	99,5	0	0	0,5	418
Durchsch.	84,9	0,8	0,03	14,3	
Standard- kreuzung	83,6	1,1	0	15,3	891

Tab. 33, Fortsetzung

2. Ansatz

Nr.	$D^{R_C S}_P$	$D^{S_C R}_P$	$D^{R_C R}_R$	$D^{S_C S}_R$	Kol.
1	5,6	91,2	0	3,2	745
2	22,2	15,9	0	61,9	189
3	39,3	0,3	0	60,4	689
4	49,3	22,6	0	28,1	495
5	51,0	0,8	0	48,2	898
6	70,1	16,8	0	13,1	394
7	70,6	16,2	0	13,2	581
8	77,7	11,0	0	11,3	638
9	83,8	11,6	0	4,6	372
10	84,2	8,0	0	7,8	761
11	87,9	4,9	0	7,2	663
12	92,0	7,1	0	0,9	212
13	94,2	5,8	0	0	433
14	95,4	0	0	4,6	611
15	96,3	0	0	3,7	320
Durchsch.	65,9	15,4	0	18,7	
Standard- kreuzung	81,8	1,3	0	16,9	703

3. Ansatz

Nr.	$D^{R_C S}_P$	$D^{S_C R}_P$	$D^{R_C R}_R$	$D^{S_C S}_R$	Kol.
1	20,2	0	0	79,8	436
2	51,1	1,6	0	47,4	190
3	56,2	10,5	0	33,3	354
4	64,8	0,2	0	35,0	531
5	69,5	0	0	30,5	151
6	78,0	0	0	22,0	354
7	78,8	0	0	21,2	405
8	79,3	0	0	20,7	328
9	85,2	0,1	0	14,6	745
10	92,8	4,5	0	2,7	224
11	92,8	0	0	7,2	362
12	93,1	2,0	0	4,9	346
13	93,5	0,4	0	6,1	246
14	95,7	0,3	0	4,0	579
15	96,0	0	0	4,0	354
16	96,5	3,5	0	0	287
17	96,8	0	0	3,2	371

Tab. 33, Fortsetzung

Nr.	$D_{P}^{R_C S}$	$D_{P}^{S_C R}$	$D_{R}^{R_C R}$	$D_{R}^{S_C S}$	Kol.
18	98,5	1,5	0	0	397
19	98,7	0	0	1,3	625
20	99,1	0,9	0	0	431
21/22	99,4	0	0	0,6	327/353
23	99,5	0,5	0	0	413
24	99,7	0,3	0	0	379
25-30	100	0	0	0	ca.300
Durchsch.	88,0	0,8	0	11,2	
Standard- kreuzung	78,2	9,4	0	12,4	458

4. Ansatz

Nr.	$D_{P}^{R_C S}$	$D_{P}^{S_C R}$	$D_{R}^{R_C R}$	$D_{R}^{S_C S}$	Kol.
1	1,3	0	0	98,7	456
2	44,4	2,6	0	53,0	349
3	46,2	11,2	0	42,6	437
4	58,8	14,8	0	26,4	243
5	59,6	0	0	40,4	147
6	60,4	0,6	0	39,0	164
7	60,6	17,2	0	22,2	221
8	63,9	0	0	36,1	202
9	71,6	25,2	0	3,2	349
10	73,5	14,1	0	12,4	362
11	73,6	0	0	26,4	144
12	76,3	20,0	0	3,7	574
13	85,4	3,2	0	11,4	158
14	88,8	0	0	11,2	280
15	91,7	0	0	8,3	157
16	92,8	0	0	7,2	277
17	93,0	0	0	7,0	171
18	93,1	0	0	6,9	538
19	94,2	0	0	5,8	269
20	94,6	0	0	5,4	224
21	95,5	0,5	0	4,0	548
22	96,5	0,5	0	3,0	199
23	96,7	3,3	0	0	242
24	97,5	0	0	2,5	240
25	98,0	0,3	0	1,7	298
26	99,2	0	0	0,8	223
27	99,6	0	0	0,4	261
28-30	100	0	0	0	ca.300
Durchsch.	76,9	5,3	0	17,8	
Standard- kreuzung	79,7	12,9	0	7,4	542

Tab. 34

neo^r-1 h⁻ade⁻ x ery^r-114 mei 1 lys⁻

Zygotenanalysen

Nr.	N ^R E ^S P	N ^S E ^R P	N ^R E ^R R	N ^S E ^S R	Kol.
1/2	0	100	0	0	ca.300
3	0	99,5	0	0,5	364
4	0	98,1	0	1,9	212
5	0	71,8	0	28,2	238
6	0	60,7	0	39,3	400
7	0	55,8	0	44,2	787
8	0	50,9	0	49,1	371
9	0	39,0	0	61,0	359
10	0	36,6	0	63,4	358
11	0,7	48,2	0,7	50,4	274
12	1,3	38,5	0,5	59,7	400
13	2,1	44,3	0,4	53,2	235
14	5,9	92,9	0	1,2	340
15	6,1	71,2	0	22,7	229
16	6,5	71,5	0	22,0	400
17	6,8	89,6	2,8	0,8	251
18	7,0	61,3	0,2	31,5	445
19	7,2	89,4	0	3,4	377
20	7,8	62,8	0,7	28,7	293
21	7,9	80,3	3,4	8,4	356
22	8,0	64,0	3,2	24,8	411
23	8,3	79,4	0	12,3	719
24	8,6	83,8	1,4	6,2	210
25	8,6	69,6	5,2	16,6	290
26	8,8	66,3	0	24,9	249
27	9,4	76,1	0	14,5	414
28	9,4	46,5	0,7	43,4	288
29	9,5	38,8	3,4	48,3	327
30	9,8	67,1	0,2	22,9	398
31	10,0	88,3	0,7	1,0	300
32	10,5	88,4	0	1,1	285
33	10,5	88,2	1,3	0	304
34	10,6	68,1	0,6	20,7	357
35	10,7	78,3	0,6	10,4	511
36	10,7	57,6	0,4	31,1	262
37	10,7	11,6	0	77,7	440
38	11,0	75,9	0,5	12,6	390
39	11,2	63,7	0,3	24,8	339
40	11,2	60,1	0	28,7	223
41	11,5	68,2	0,4	19,9	296
42	12,0	85,5	2,5	0	359
43	12,3	75,0	0,2	12,5	552
44	12,3	48,1	0,3	39,3	318
45	12,8	48,2	0	39,0	415
46	12,9	69,9	0	17,2	309
47	13,2	85,0	0,6	1,2	347

Tab. 34, Fortsetzung

Nr.	$N_{P}^{R,S}$	$N_{P}^{S,R}$	$N_{R}^{R,R}$	$N_{R}^{S,S}$	Kol.
48	13,5	86,5	0	0	334
49	13,6	84,0	2,4	0	368
50	13,8	83,7	1,6	0,9	312
51	14,0	85,7	0,3	0	384
52	15,0	34,5	0,9	49,6	113
53	15,6	74,5	0	9,9	282
54	15,6	41,4	0,4	42,6	256
55	15,9	33,0	0,5	50,6	433
56	16,2	83,8	0	0	234
57	16,6	49,4	0	34,0	314
58	16,6	0,6	0	82,8	350
59	16,8	61,8	0	21,4	453
60	16,8	57,0	0	26,2	393
61	17,0	24,7	0,6	57,7	300
62	17,1	82,9	0	0	175
63	17,3	79,1	2,9	0,7	277
64	17,4	81,7	0	0,9	339
65	17,6	57,9	2,2	22,3	233
66	18,5	78,8	0,2	2,5	405
67	18,5	56,6	0,3	24,6	346
68	18,6	61,9	0	19,5	451
69	19,0	80,7	0	0,3	306
70	19,4	38,0	0,4	42,2	268
71	19,6	75,9	0,3	4,2	378
72	19,8	78,3	0,2	1,7	469
73	20,0	79,4	0,3	0,3	369
74	20,3	78,6	0,9	0,2	434
75	20,9	78,5	0,4	0,2	484
76	20,9	75,0	1,7	2,4	296
77	21,1	74,0	1,3	3,6	465
78	21,2	78,0	0,4	0,4	231
79	21,3	78,4	0,3	0	300
80	21,4	78,6	0	0	238
81	23,1	18,8	0,2	57,9	416
82	24,2	7,7	1,2	66,9	248
83	25,5	66,5	1,2	6,8	251
84	26,3	69,9	0	3,8	505
85	27,2	72,0	0,8	0	257
86	27,6	72,0	0	0,4	500
87	27,6	71,2	0,5	0,7	427
88	27,9	70,2	0,6	1,3	319
89	28,5	71,5	0	0	274
90	28,6	71,0	0,4	0	497
91	28,9	68,9	2,2	0	318
92	29,2	63,4	0,5	6,9	216
93	29,6	59,7	5,9	4,8	253
94	31,3	68,3	0,2	0,2	429
95	32,1	66,7	0,6	0,6	358
96	34,6	23,1	0,8	41,5	260
97	36,6	0,9	0	62,5	325

Tab. 34 , Fortsetzung

Nr.	$N_{P}^{R,S}$	$N_{P}^{S,E,R}$	$N_{R}^{R,E,R}$	$N_{R}^{S,E,S}$	Kol.
98	39,5	59,9	0,6	0	319
99	40,7	2,4	0	56,9	383
100	42,8	10,9	1,0	45,3	320
101	43,4	56,1	0,1	0,4	770
Durchsch.	15,6	64,1	0,7	19,6	
Standard- kreuzung	28,8	58,4	0,2	12,6	682

Tab. 35

Beeinflussung der Transmission durch Chloramphenicol im Medium
in der Kreuzung $\text{diu}^{\text{r}}\text{-301h}^{\text{ade-}} \times \text{ery}^{\text{r}}\text{-114 mel1 lys}^{\text{-}}$

Kreuzung und Medium	$\text{D}_{\text{E}}^{\text{R}} \text{S}_{\text{P}}$	$\text{D}_{\text{E}}^{\text{S}} \text{R}_{\text{P}}$	$\text{D}_{\text{E}}^{\text{R}} \text{R}_{\text{R}}$	$\text{D}_{\text{E}}^{\text{S}} \text{R}_{\text{R}}$	Kol.	Transmission $\text{D}_{\text{R}}^{\text{R}}$ $\text{E}_{\text{R}}^{\text{R}}$
DxE/SPA/EMM =Standardkreuzung	48,7	39,1	2,9	9,3	450	51,6 42,0
$\text{D}_{\text{C}} \times \text{E}_{\text{C}} / \text{SPA}_{\text{C}} / \text{EMM}_{\text{C}}$ 1. Ansatz	61,1	24,1	3,6	11,2	556	64,7 27,7
2. Ansatz	64,0	23,9	2,2	9,9	364	66,2 26,1

III. Segregation mitochondrialer Genome

1. SEGREGATION OHNE ZELLTEILUNG

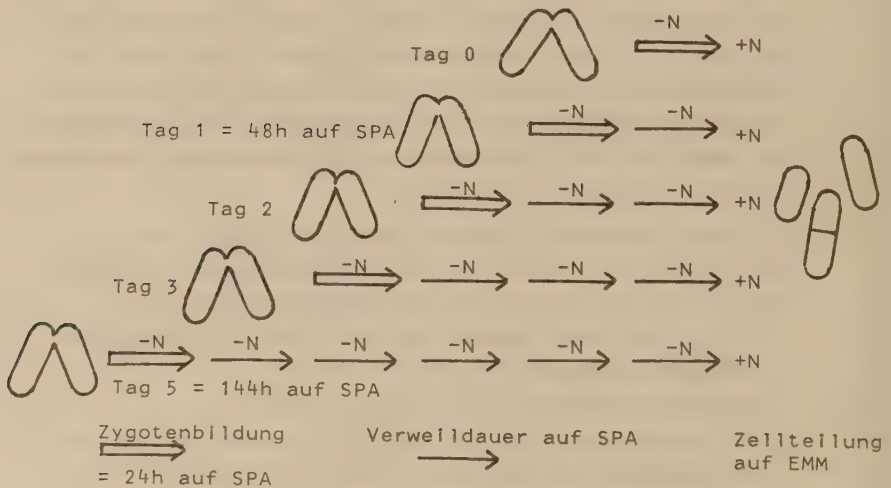
Das Auftreten uniparentaler Zygotenkclone hat gezeigt, daß es einen Mechanismus geben muß, der bereits in der Zygote oder während der ersten Zellteilungen des diploiden vegetativen Lebenszyklus mitochondriale Genome eliminiert. Als Mechanismus kämen Zerstörung eines Molekültyps oder Verhinderung seiner Replikation in Frage (vgl. Teil II, 4). Die empfindliche Nachweismethode für UPS-Klone (siehe II,4) beweist, daß es sich wirklich um sensitive Zellen handelt, in denen Resistenzen nicht mehr exprimiert werden. Aufgrund des Auftretens von uniparentalen Klonen ist ein bloßes Ausverdünnen des einen mtMolekültyps während der aufeinanderfolgenden Zellteilungen auszuschließen: Michaelis (1967) zeigte, daß etwa 10 N (N = Anzahl der segregierenden Einheiten) Generationen für das vollständige Heraussegregieren eines mtMolekültyps erforderlich wären. Diploide Zellen von *Sch.pombe* enthalten ungefähr 100-150 mtDNS-Moleküle und würden daher mehr als 1000 Generationen Segregationszeit benötigen, bis sie homoplasmisch sind.

Es wurde nach einer Methode gesucht, Segregation in Abwesenheit von Zellteilung zu untersuchen. Der Versuchsansatz muß drei wichtige Voraussetzungen erfüllen:

- Die Teilung der Zygoten muß möglichst vollständig unterbunden werden.
- Der DNS-Stoffwechsel muß weiterlaufen.
- Die Absterberate der Zellen darf nur gering sein, um sicherzustellen, daß nicht bestimmte Genotypen für die Analysen verlorengehen.

Es wurde Aushungerung der Zygoten auf Stickstoff-freiem Medium gewählt. Zwei Stämme werden zur Zygotenbildung auf SPA-Vertikalagar-Röhrchen gemischt. Der synthetische Sporulationsagar enthält Salze und Vitamine, aber keinen Stickstoff; er wird dann verwendet, wenn die Zygoten ohne weitere diploide Zellteilung sporulieren sollen oder - in unserem Falle bei Kreuzung mit der Mutante *mei1* - stabile Zygoten bilden sollen. Durch dieses Medium wird gewährleistet, daß sich sowohl die haploiden Kreuzungspartner als auch die Zygoten nicht weiter vermehren. Außerdem wurde nur eine geringe Letalität der Zellen nach dieser Prozedur festgestellt.

Die Zygoten wurden bis zu fünf Tagen an der Zellteilung gehindert. Folgendes Schema soll das verdeutlichen:



Pro Tag werden aus dem Kreuzungsgemisch Einzelkolonien auf EMM + Phloxin plattiert. Je 100 Kolonien pro Zeitpunkt werden isoliert, erneut ausplattiert, und ca. 500 Kolonien pro Klon werden auf entsprechenden Antibiotikamedien bezüglich ihres Resistenztransmissionsverhaltens untersucht.

Das entscheidende Kriterium dieser Versuchsanordnung soll nochmals betont werden:

In einem Aushungerungsexperiment auf N-freiem Medium durchlaufen alle Zellen nach Plattieren auf N-haltiges Medium die gleiche Anzahl von Generationen. Der Unterschied liegt nur in der Verweildauer auf SPA ohne Stickstoff.

Im vorliegenden Experiment wurden als mitochondriale Mutationen die Resistenzen gegen 3(3,4-Dichlorphenyl)-1,1-Dimethylharnstoff (Diuron oder DCMU) (diu^r bzw. D^R) und Erythromycin (ery^r bzw. E^R) verwendet. (Monofaktorielle Kreuzung $D^R \times D^S$, bifaktorielle Kreuzungen $D^R E^S \times D^S E^R$, $D^R E^R \times D^S E^S$)

Die Mutation $mei1$ (mit den Allelen $mei1-102$ und $mei1-140$ in dieser Arbeit) blockiert die Meiose und erlaubt so die Bildung stabiler Diploider in Kreuzungen $h^- \times mei1$. Dabei ist bei einer Inkubationstemperatur von $23^\circ C$ auch nach 6 Tagen auf stickstofffreiem Medium keine nennenswerte Letalität zu verzeichnen.

Parallel zu den Zygotenklonanalysen werden für die untersuchten Zeitpunkte der Stickstoff-Aushungerung Standardkreuzungen ausgeführt, deren Markerverteilung Rückschlüsse auf die Allelverteilung der gesamten Population erlaubt.

- monofaktorielle Kreuzung $diu^r-301h^- \times mei1-140$

Ergebnisse des Verzögerungsexperiments mit Zygoten der monofaktoriellen Kreuzung $D^R h^- \times D^S mei1$ sind in Fig. 24

wiedergegeben. Für jeden Verzögerungszeitpunkt wurden 100 Zygotenklone mit je 500-1000 diploiden Nachkommen untersucht. Die Werte der D^R -Transmission wurden in 5%-Intervalle unterteilt:

Klone, die aus nicht-ausgehungerten Zygoten (Tag 0) hervorgingen, zerfallen deutlich in drei Transmissionsklassen: eine mit Normalverteilung der D^R -Transmission um 50%, und zwei mit extrem niedriger (0-5%) und extrem hoher (95-100%) Transmission. Während sukzessiver Aushungierung verändert sich das Transmissionsmuster: Die Gaußverteilung um 50% flacht ab und die extremen Klassen steigen steil an. Die Gesamtzahl der Klone mit hohen und niedrigen Transmissionswerten wächst kontinuierlich von 21 bei Tag 0, über 39 bei Tag 1, 48 bei Tag 2, 67 bei Tag 3 auf 71 bei Tag 5 an. Uniparentale Klone (dargestellt durch weiße Balken) steigen ebenso bis zum 3.Tag an (15 bei Tag 0, 32 bei Tag 1, 40 bei Tag 2, 64 bei Tag 3), fallen am 5.Tag (49), was aber nicht signifikant verschieden von Tag 2 oder 3 ist.

Das Abflachen der Häufigkeitsverteilung unter den biparentalen Klonen ist ein Anzeichen steigender Varianz der Markertransmission. Tab.36 zeigt die Varianzen während der Aushungierung; die Werte fluktuieren zwar etwas, fallen aber niemals auf den ursprünglichen zurück; das gilt sowohl für alle Zygoten, als auch für die biparentalen Klone allein. Die Transmissionswerte sind in den Zygotenklonen geringer als in der Standardkreuzung, aber das gilt nur für diese spezielle Kreuzung. Die D^R -Transmission fällt nach 1 Tag Zellteilungsverzögerung, bleibt aber dann konstant. Das D^S -Allel wird stärker transmittiert, was mit einem stärkeren Anwachsen der UPS- gegenüber den UPR-Klonen korreliert ist (Fig. 24).

- bifaktorielle Kreuzungen

Da die mitochondrialen DNS-Moleküle während der verlängerten Verweildauer in der Zygote mehr Gelegenheit zur Paarung haben, wurde untersucht, ob durch die Aushungierung die Rekombinationshäufigkeit erhöht ist. Es wurden bifaktorielle Kreuzungen unter der Verwendung mitochondrialer Resistenzmarker gegen Diuron und Erythromycin ausgeführt.

Die Veränderungen im Transmissionsmuster der Resistenzen D^R und E^R (Fig.25, 26) sind ganz ähnlich denjenigen in monofaktoriellen Kreuzungen. Gezeigt werden auch für die trans-Kreuzung die Transmissionsmuster der beiden gekoppelten Marker D^R und E^S (Fig.25, 27), um hier auch die kovariante Änderung zu verdeutlichen, wie sie für Marker am selben Genom erwartet wird. Die Transmission der drei getesteten Marker (D^R , E^R , E^S) bleibt ziemlich konstant, sowohl in Diploiden der Standardkreuzungen als auch in den Zygotenklonen, was einen koordinierten output der Marker während der Aushungierung anzeigt (Tab.37).

In einem Kontrollexperiment wurden die Zygoten nach 24 Stunden Kreuzung auf SPA bei 23°C 5 Tage lang auf SPA bei 6°C gehalten. Dadurch konnten die bei 23°C ablaufenden Vorgänge zwar nicht ganz unterbunden, jedoch weitgehend verhindert werden (Tab. 38, Fig.28).

-trans-Konfiguration

In Standardkreuzungen und in Zygotenklonanalysen liegen die Rekombinationsfrequenzen zwischen dem diu- und dem ery-Locus zwischen 3,5 und 11,6%. Die mittlere Rekombinationshäufigkeit unterscheidet sich nur wenig bei Vergleich der verschiedenen Verzögerungszeitpunkte; es wird

keine ansteigende Tendenz im Verlauf der Aushungerung sichtbar. Um einen eventuellen Unterschied in der Verteilung unter den individuellen Zygotenklonen während des Aushungerungsexperiments zu erkennen, wurden die Häufigkeitsverteilungen der Rekombinanten analysiert (Fig. 29 bis 35). Entgegen der Markertransmission gibt es hier keine Gauß'sche Verteilung um einen Mittelwert. Die Anzahl der Klone, die keine Rekombinantennachkommenschaft produziert, schwankt von 14 bis 22 (weiße Balken in Fig. 29-35). 50-57 von jeweils 102 Klonen für jeden Aushungerungswert produzierten eine Nachkommenschaft mit weniger als 10% Rekombinanten. Das Maximum der Rekombinationshäufigkeit bei den einzelnen Klonen ist 54% am Tag 0, 57% am Tag 1 und 78% am Tag 2. Nach 5 Tagen Zellteilungsverzögerung treten erstmals homoplasmische Rekombinantenkclone auf (Fig. 33), allerdings nur homoplasmisch sensible. Der Überschuß doppelt sensibler Rekombinanten über doppelt resistente ist in Diploiden sowohl aus Standardkreuzungen als auch aus Zygotenklonanalysen 2- bis 3-fach. Der Nachteil der doppelt resistenten Rekombinanten beruht nicht auf Selektion auf dem Zellniveau, da beide Rekombinantentypen dieselbe Generationszeit in Medium ohne Antibiotikazusatz haben. Das Verhältnis von $D^R E^R$ - zu $D^S E^S$ -Rekombinanten verändert sich während der Gesamtperiode der Aushungerung nicht.

Zur Verdeutlichung der zunehmenden Varianz der Allelverteilung wurde die Darstellung der Transmissionshäufigkeiten im Wahrscheinlichkeitsnetz gewählt. In den Fig. 36 und 37 ist der Prozentsatz der Transmission von D^R , E^R und E^S gegen den kumulativen Prozentsatz der Zygotenklone (= Häufigkeitssummen in % der Gesamtzahl) angetragen. Bei Tag 0 erhält man eine ziemlich kontinuierliche Gauß-

verteilung zwischen ca. 25-70% für D^R , E^R und E^S . Die Werte für Tag 5 bilden eine flache Gerade, begleitet von einem Ansteigen an uniparentalen Klonen.

Die entsprechende Gauß-Skala für den Kälte-Kontrollversuch zeigt für Tag 0 und 5 Tage Aushungerung je zwei fast parallele Geraden (Fig.38 und 39), also wie erwartet keine starke Änderung im Transmissionsmuster.

-cis-Konfiguration

Das Mittel der Resistenz-Transmissionshäufigkeiten liegt niedriger, die Gauß-Kurve ist nach links verschoben (Fig. 40,41): Wie schon in den Standardkreuzungen beeinflussen sich auch hier bei den Zygotenklonanalysen am selben mtGenom gelegene Resistenzmarker gegenseitig auf die Weise, daß ihre Transmissionshäufigkeit erniedrigt wird. Die gekoppelten mtMarker D^R und E^R werden kovariant transmittiert.

Die Rekombinationsfrequenzen liegen für alle Aushungerungsperioden im selben Größenbereich (Tab.39, Fig.42-44), beide Rekombinantentypen ($D^R E^S$ und $D^S E^R$) sind etwa gleich häufig. Das Maximum der Rekombinationshäufigkeit bei den einzelnen Klonen ist 80% am Tag 0; am Tag 2 tritt ein homoplasmischer Rekombinanteklon des Typs $D^S E^R$ auf, und am Tag 5 gibt es für beide Rekombinantentypen homoplasmische Klone. Dies zeigt, daß ein Klon auch für einen Molekültyp, der am Anfang in der Zelle als Minderheitsklasse vorliegt, uniform werden kann (vgl. II,4).

Mittelwerte und Varianzen der beiden bifaktoriellen Aushungerungsexperimente sind nochmals in den Tab. 40 und 41 zusammengestellt.

- Transmissions- und Rekombinations-Häufigkeiten mitochondrialer Marker in individuellen Fusions- und Zygotenklonen

Das Transmissionsmuster der 103 individuellen h^-/h^- -Fusionsklone, gezeichnet in 5%-Intervallen der Transmission (diu^r , ery^r , ery^S) zeigt Fig. 45 (Werte in Tab. 42). Die meisten Klone gehören zu den Extremklassen von 0-5% und 95-100% Markertransmission. Mehr als 80% transmittieren nur den einen oder den anderen parentalen mitochondrialen Genotyp, sind also uniparental resistent (UPR) oder sensibel (UPS). Ein davon völlig verschiedenes Verteilungsmuster der Transmissionshäufigkeiten zeigt die Analyse der Zygotenklone aus Stämmen mit denselben Resistenzmarkern: Nur wenige Klone gehören zu den extremen Transmissionsklassen, die UPR und UPS einschließen, während der Großteil eine Gaußverteilung um 50% Markertransmission bildet (vgl. Fig. 24-28, Tag 0).

Führt man allerdings dieselben Zygotenklonanalysen nach 5-tägiger Hemmung der Zellteilung aus, ist das Transmissionsmuster dem der Fusionsklone sehr ähnlich (Fig. 24-27, Tag 5). Im Fall fusionierter Protoplasten wird die Zellmultiplikation ähnlich verzögert, da die Fusionsprodukte einige Tage Zeit benötigen, um ihre Zellwand zu erneuern. Die geänderte Transmissionsverteilung von Fusionsklonen gegenüber Zygotenklonen beruht (wenigstens zum Teil) auf der Verzögerung der ersten Zellteilung. Das Muster der Rekombinantenverteilung zeigt Fig. 46. Es ist ähnlich dem der Zygotenklone (vgl. Fig. 29-35).

2. SEGREGATION BEI ZELLTEILUNG: DAUER DES HETEROPLASMI- SCHEN ZUSTANDS

Es wurde gezeigt (Punkt 1), daß die Fixierung von Allelen (Segregation) bereits ohne Zellteilungsaktivität teilweise abgeschlossen ist. Das Auftreten uniparentaler Klone zeigt auch, daß passives Ausverdünnen bestimmter Moleküle während der Zellvermehrung nicht zur Erklärung der Segregationsgeschwindigkeit ausreicht. Bei der Segregation mit Genome überlagern sich wahrscheinlich mehrere Vorgänge:

- Ein Teil der Zellen ist bereits im Zygotenzustand oder in den ersten Generationen des vegetativen diploiden Lebenszyklus homoplasmisch.

In den meisten Zellen ist die Segregation nach 10-20 Generationen abgeschlossen.

- In einigen Zellen ist die Segregation nach mehr als 90 Zellgenerationen noch nicht vollständig abgelaufen.

In den folgenden Versuchen sollte deshalb der zeitliche Verlauf der Segregation untersucht werden:

- Segregationsgeschwindigkeit in flüssigem Minimalmedium

Minimalmedium wurde mit Zellen eines Kreuzungsgemischs beimpft (Animpftiter 10^2 - 10^3 Zellen/ml) und bei 30°C geschüttelt. In diesem Medium können sich nur Zygoten aufgrund ihrer komplementären Auxotrophien vermehren. Zu verschiedenen Zeitpunkten nach dem Animpfen wurden Proben entnommen, verdünnt und auf Minimalmedium plattiert. Die Zellen der Einzelkolonien wurden suspendiert, verdünnt, wieder plattiert und die Kolonien auf Selektivmedien gestempelt. Da entscheidende Segregationsvorgänge gleich in den Zygoten abzulaufen scheinen (vgl. N-Aushungerungsexperimente), wurden je 50 Zygotenklone gleich nach Beimpfen der Flüssigkultur, nach 5 und nach 10 Stunden Verweildauer der Zellen in Minimalmedium analysiert (Tab.43).

Zum Zeitpunkt 0, was den Zygotenanalysen aus Teil II, Pkt.3-5 und Teil III, Pkt.1, Tag 0 entspricht, beträgt die Anzahl der doppelt resistenten Zygoten (D^{RE^R}) 2,5%. Zwei Klone sind bereits jetzt uniparental. Nach 5 bzw. 10 Stunden (das entspricht 0,3-2 Generationen Wachstum in Minimalmedium) sind 29 bzw. 21 homoplasmisch für einen Parentaltyp. Die Anzahl der Doppelresistenten bleibt in etwa konstant, die Doppelsensitiven haben stark zugenommen (16,3%).

Die Änderungen in den Transmissionshäufigkeiten und Rekombinantenverteilungen sind in Fig. 47a,b und 48a-c dargestellt. Eine Gaußverteilung der Resistenzmarker-Transmission existiert nur für den Anfangszeitpunkt. Für die weiteren Zeitwerte sind die Vorgänge ähnlich denen während der Zygotenaushungerung.

Zur Zeit 5h sind 22 von 51 Klonen noch gemischt, zur Zeit 10h 30 von 51 und zur Zeit 31h 36 von 52. Bis zu diesem letzten geprüften Zeitpunkt sind ca. 14 Generationen diploiden Wachstums abgelaufen. Diese Zeitspanne genügt also bei weitem nicht für eine Fixierung der Resistenz- bzw. Sensitivitätsallele in allen Diploiden.

- Segregation bei wiederholtem Subklonieren

Um zu bestimmen, wann die Segregation mtAllele in diploiden Zellen abgeschlossen ist, wurde der im Schema Fig.49 dargestellte Versuch durchgeführt: Diploide Einzelkolonien, hervorgegangen aus Zygoten des Kreuzungsgemischs $diu^{rh^-}x \times ery^{rme11}$, werden auf Selektivmedien gestempelt. Kolonien der drei möglichen resistenten Genotypen (D^{RES} , D^{SER} , D^{RE^R}) werden teils vom selektiven (Antibiotikamedium), teils vom nicht-selektiven Medium (Glycerin) abgenommen, in KCl-Lösung verdünnt und auf Glucose+Phloxin (um Haploide

auszuschließen) plattiert und erneut auf Selektivmedien gestempelt.

Die Daten zeigen die Teile "1.Passage" der Tab.44a-c. Von einzelnen dieser Isolate werden wieder mehrere Kolonien, jeweils des selektierten Genotyps, isoliert, erneut plattiert und gestempelt. Die neue Markerverteilung ist in Tab.44a-c als "2.Passage" dargestellt.

Nach der 1.Passage sind Kolonien des doppelt resistenten Phänotyps, isoliert von nicht-selektivem Medium ($D^{R,R}_{E_{ns}}$ -Isolate) aus resistenten und sensiblen Zellen gemischt. Nur in einem einzigen der 36 untersuchten Isolate waren mehr als 50% der Zellen $D^{R,R}_E$; ihre durchschnittliche Häufigkeit liegt bei 12%.

Nach der 2.Passage steigt sie auf 82,5%, und es gibt schon homoplasmische $D^{R,R}_E$ -Klone in 7 von 9 weitergetesteten Isolaten.

Isoliert man doppelresistente Kolonien vom Doppelantibiotikamedium, so erhält man schon nach einer Passage homoplasmische Klone. Die Häufigkeit des $D^{R,R}_E$ -Genotyps beträgt in jedem untersuchten Klon mehr als 90% (Tab. 44a).

Einfach resistente Kolonien (Parentaltyp $D^{R,S}_E$) zeigen im Durchschnitt 93,4% nach der 1.Passage und 99,6% Transmission nach der 2.Passage, wenn man sie vom nicht-selektiven Medium abisoliert. Nimmt man sie vom selektiven Medium, sind nach einer Passage 99,4% der Kolonien wieder vom Typ $D^{R,S}_E$. Nach der Passage 2 gibt es in beiden Fällen Isolate, deren individuelle Klone alle uniform $D^{R,S}_E$ sind (Tab.44b).

Die Durchschnittswerte beim anderen Parentaltyp ($D^{S,R}_E$) liegen ähnlich. Ausreißer sind die Isolate 4-1 bis 4-3, die auf beiden Antibiotikamedien wachsen, also vom Typ ($D^{R,R}_E$)^S sind (Tab.44c).

Zusammenfassend kann man sagen, daß die Segregation der mtResistenzmarker D^R und E^R nach der 2. Passage, d.h. ca. 90 Generationen nach Zygotenbildung trotz Passagen auf Antibiotikamedien noch nicht völlig abgeschlossen ist. Die Anzahl homo- bzw. heteroplasmischer Klone ist in Tab. 44d nochmals zusammengestellt.

- Segregation von Antimycin- und Diuronresistenz in Diploiden

Ein weiterer Versuch zur Bestimmung der Dauer des heteroplasmischen Zustands in Diploiden wird mit den Markern Diuronresistenz (diu^r) und Antimycinresistenz (ana^r) ausgeführt. Die Mutationsorte dieser zwei Antibiotikaresistenzen sind eng gekoppelt; beide liegen wahrscheinlich im Genort für Cytochrom b (vgl. Hind III-Restriktionskarte in Teil I Seite 35).

Echte doppelresistente Rekombinanten ($A^R D^R$) treten äußerst selten (weniger als 0,1%) auf, dafür findet man nach Kreuzung eines A^R - mit einem D^R -Stammes einen hohen Prozentsatz von Zellen, die zwar auf Gly + Antimycin und Gly + Diuron, aber nicht am Doppelmedium zur Koloniebildung befähigt sind. Diese Kolonien werden hier kurz ($D^R A^R$)^S genannt. Dagegen treten doppelt sensitive Rekombinanten in den bei anderen Markerkombinationen gefundenen Größenordnungen auf (siehe auch Burger und Wolf, 1981). Das Auftreten der $A^S D^S$ -Rekombinanten beweist, daß zwischen den beiden Markern Rekombination stattgefunden hat. Die doppelt resistente Rekombinantenklasse hat jedoch in allen Kreuzungen mitochondrialer Resistenzmutanten einen starken Nachteil, besonders denjenigen, die den cap^r -Marker tragen. Die Zellen von Typ ($D^R A^R$)^S enthalten eine gemischte mtDNS-

Population, also DNS-Moleküle, die Antimycinresistenzdeterminanten tragen und solche mit Diuronresistenzdeterminanten. Die Möglichkeit, daß es sich bei diesen Kolonien um ein Gemisch von zwei Zellpopulationen (A^{RD^S} - und D^{RA^S} -Zellen) handelt, scheidet aus, da beim Subklonieren von $(A^{RD^R})^S$ -Kolonien keine Entmischung in die beiden Parentalkonfigurationen auftritt.

Auch die Möglichkeit daß rekombinante Moleküle vorhanden sind, aber nicht exprimiert werden, ist unwahrscheinlich:

- In Sporenklonen konnten resistente Kolonien auf Doppelmedium gefunden werden - wenn auch sehr selten (In 41 geprüften Klonen enthielt nur ein einziger 1% A^{RD^R} -Kolonien) (Tab. 51, Isolat 5-14).
- Ferner gibt es Mutanten, die gegen Antimycin und Diuron resistent sind und auf Doppelmedium wachsen (Burger und Wolf, 1981).

Aus einem Kreuzungsgemisch der Stämme $ana^{r-14h-} \times diu^{r-72}$ me1-140 wurde EMM-Flüssigmedium mit ca. 10^5 Zellen/ml angeimpft. Unter diesen Zellen befanden sich nur ca. 50 lebensfähige Zygoten (Tab. 45). Die Kultur wurde bei $30^\circ C$ geschüttelt, zu verschiedenen Zeitpunkten wurden Proben entnommen und plattiert: auf Glucose-Vollmedium zur Bestimmung des Gesamttiters und auf Minimalmedium zur Bestimmung des Zygotentiters. Wie erwartet sterben die haploiden Zellen in der Kultur ab und die Zygoten vermehren sich, bis nach ca. 72 Stunden praktisch nur noch diploide Kolonien auf den Platten wachsen (Tab. 45).

Diese Kolonien werden auf Selektivmedien (Gly, Gly + A, Gly + D, Gly + A + D) gestempelt und die Verteilung der $diu^{r/s}$ - und $ana^{r/s}$ -Allele ermittelt. Die Transmissionsraten von Antimycin- zu Diuronresistenz verhalten sich

60% zu 40%. Die Anzahl der heteroplasmischen $A^R D^R$ - Zellen und der doppelsensitiven Rekombinanten bleibt in etwa konstant. Das zeigt, daß auch in Diploiden aus ana^r/diu^r - Kreuzungen nach ca. 23 Generationen Wachstum die Segregation nicht abgeschlossen ist (Tab. 45), da der Anteil an $(D^R A^R)^S$ -Zellen nicht signifikant geringer wird.

3. SEGREGATION IN SPORENKLONEN

Alle bisherigen Untersuchungen zum Segregationsverhalten mitochondrialer Gene wurden in Diploiden vorgenommen. Im folgenden soll geprüft werden, wie die Segregationsvorgänge in haploiden Klonen, die aus Meiosporen entstehen, ablaufen.

Werden haploide Zellen entgegengesetzten Paarungstyps ($h^- \times h^+$) auf Sporulationsmedium (SPA oder Malz) gemischt, verschmelzen sie seitlich der Zellpole miteinander zu Zygoten. Diese Zygote sporuliert unverzüglich, es entsteht ein 4-sporiger geordneter Askus. Das Cytoplasma der Zygote wird hierbei in vier etwa gleich große Bezirke geteilt, die dann von der Sporenmembran umschlossen werden.

Zellen vom Typ $D^R h^-$ und $D^S h^+$ werden für 18 Stunden zur Zygotenbildung auf SPA, danach zur Sporulation auf Malzagar gebracht. Durch Alkohol werden die vegetativen Zellen im Gemisch abgetötet. Ein Teil der Sporen wird sofort auf Glucosemedium plattiert. Der Rest der Sporensuspension wird 10 Tage in KCl-Lösung bei Zimmertemperatur zur Aushungerung stehengelassen.

Vom Glucoseagar werden ca. 100 Einzelkolonien (= primäre Sporenklone) isoliert, in KCl suspendiert und wieder ausplattiert. Diese sekundären Sporenklone werden auf Selektivmedien (Gly, Gly + D) gestempelt und ihre Resistenztransmission bestimmt.

Zwei unabhängige Kreuzungsansätze wurden gemacht. Das Ergebnis zeigt, daß 88 von 102 bzw. 80 von 101 Klonen homoplasmisch sind (Tab. 46, Fig. 50). Dabei überwiegen im einen Fall die rein resistenten (52), im anderen die rein sensiblen (49) Klone. Das Mittel der diu^r -Transmission liegt - vergleichbar mit mitotischer Transmission in Diploiden - um 50%. Die heteroplasmischen Sporenklone bil-

den, anders als Iggenkulturen, keine Sekundärteilung während der Auskultierung in Kf. Auch nach der Teilung genannt, die Anteileanteile der Zellen ist aber geringer als 10%.

Nach 70 Tagen Auskultierung konnten wieder 11 sekundäre Sprossklone analysiert werden (es war deutlich, dass kleine homologe Klone (19), sowie der größte Anteil uniparental herstellte. Der Durchschnitt der α - β -Klone war 11,4% bei 5%. Die Unterschiede im Gesamtverhalten der Klone sind nicht signifikant zum Tag 2 (Tab. 46, Fig. 54).

Der Versuch wurde mit erhöhter Sicherheit durchgeführt und zur üblichen Segregationsmöglichkeit ausgenutzt.

Das Kreuzungsmodell wurde nach Iggenkultierung am 2. Tag in flüssigen Minimalmedium geschüttelt. Hier können sich nur zwei Klone die gleiche Zellen teilen. Nach der Klontierung oder Klonten ab. Auf diese Weise wurde der Iggen Teil der Klontierung nach (Tab. 46) gegenüber. Nach dieser Inkubationszeit wurden die Iggen zur Mischkultur übergeben zur Selektion geeignet.

Auch die Inkubationszeit der Klone wurde beachtet. Keine Einwirkung der Zeit bei der Klontierung. Nach 41 von ca. 500 geprüften Sprossklonen sind nicht vorhanden (Tab. 47, Fig. 55).

Durch die Vergrößerung der Sprossklone während 10-13-tägiger Inkubation in Kf. konnten sich die kleinen homologen Sprossklone nicht signifikant. Dieser Befund steht im Gegensatz zum Verhalten mikroskopisch in Iggen während Auskultierungszeit oder auf Nitrocellulose. Hier wurde die Zellteilung in den Iggen auf Solidum verlangsamt während die Klone in Kf-Kultivierung gehalten wurden, dass Iggenklonanalysen nach Auskultierung in Kf bestätigen eine

ähnlich starke Zunahme an UP-Klonen wie nach Zellvermehrungshemmung auf Sporulationsagar (Wolf und Kaudewitz, 1977).

In einem zweiten Versuchsansatz wurden die Sporen auf Malzagar gehalten.

Als Zeitpunkte für die Analyse wurden Tag 2, 3, 5 und 7 gewählt, und für jeden Zeitpunkt wurden nach Abtötung der vegetativen Zellen durch Alkohol 102 Sporenklone untersucht. Dabei wurde nicht nur die Häufigkeit der mitochondrialen Resistenz, sondern auch der Paarungstyp und als Kernmarker Adenin- bzw. Uracil-Auxotrophie bestimmt. Die uniparental sensiblen Klone wurden auch noch zusätzlich durch die sensitivere Methode des Direktplattierens auf Diuronmedium ermittelt.

Obwohl viele Sporen nach 2 Tagen Aufenthalt auf Malzmedium noch nicht keimungsfähig sind, ist das diu^r -Transmissionsmuster für jeden getesteten Zeitwert ähnlich (Fig.52). Auch das Mittel der Resistenztransmission ändert sich nicht signifikant (zwischen 41,2 und 55,5%) und korreliert gut mit der jeweils als "Populationswert" durchgeführten Freisporanalyse.

Das Verhältnis der Paarungstypallele $h^- : h^+ : h^{90}$ und der vier Kerngenotypen ADE URA, ade URA, ADE ura, ade ura bleibt auch in etwa konstant (Tab.48).

Das Ergebnis dieser Versuche läßt vermuten, daß die große Anzahl homoplasmischer Sporen damit begründet werden kann, daß die Cytoplasmadurchmischung in der Zygote außerordentlich langsam verläuft und zum Zeitpunkt der Askusbildung noch bei weitem nicht abgeschlossen ist. Der %-Satz Uniparentaler aus den drei Segregationsversuchen in Sporenklonen ist zum Vergleich in Tab.49 zusammengestellt.

Die im Askus außenliegenden Sporen haben größtenteils an diesem Durchmischungsvorgang überhaupt nicht teilgenommen und enthalten ausschließlich das mtGenom ihrer Elternzelle. Der Tatbestand, daß auch eine Zwischenbebrütung der Zygoten vor ihrer Sporulation keinen Effekt auf eine Steigerung heteroplasmischer Sporenklone hat, zeigt, daß die Zellteilung auch unter diesen Bedingungen schon stattfindet, solange das Cytoplasma der beiden Zellen, die die Zygote bilden, noch unvermischt oder nur gering durchmischt ist. Wie bei der Inkubation von Sporen in KCl-Lösung, zeigt auch eine längere Bebrütung auf Malz keine Wirkung auf den Segregationsverlauf mitochondrialer Resistenzmarker.

Analog zum mitotischen Rekombinationsverhalten der beiden Marker *ana/diu* (Pkt.2), sollten auch Untersuchungen im meiotischen System angestellt werden.

Nach Freisporanalyse $ana^+h^- \times diu^+h^+$ trat der Typ der antimycin- und diuronresistenten Zelle, die aber auf Doppelantibiotikamedium keine Kolonie bilden kann ($(D^R A^R)^S$), häufiger als die beiden Parentaltypen, nämlich in über drei Viertel der Gesamtpopulation auf (Tab.50). 6 $(A^R D^R)^S$ -Kolonien wurden vom nicht-selektiven Glycerinmedium isoliert, auf Glucose + Phloxin plattiert und auf Selektivmedien gestempelt. Der Anteil $A^R D^R$ -heteroplasmischer Zellen reicht von knapp 40 bis zu 70%.

Eine Zwischenbebrütung dieser 6 Isolate für ca. 17 Generationen in Flüssigmedium bringt keine Veränderung in der Verteilung der vier Genotypen (Tab.50).

Drei dieser Isolate wurden daraufhin wieder isoliert und subkloniert. Das Segregationsmuster nach weiteren 17 Generationen Zwischenbebrütung in flüssigem Vollmedium zeigt Tab.51. Die Häufigkeit des Typs $(D^R A^R)^S$ ist eher ange-

stiegen, besonders deutlich im Isolat Nr.6, wo (vorher 27,5% ($D^R A^R$) S) jetzt sogar ein homoplasmischer Klon auftritt.

Die Tatsache, daß nach Subklonieren eines ($D^R A^R$) S -Klons wieder (und noch dazu in hohem Prozentsatz) Kolonien auftreten, die beide Resistenzdeterminanten enthalten, aber nicht am Doppel-Antibiotikamedium wachsen, zeigt, daß im ursprünglichen Klon nicht ein Gemisch von diuron- und antimycinresistenten Zellen vorlag, sondern, daß die Determinanten für Diuron- und Antimycinresistenz gemeinsam in derselben Zelle vorhanden sind. Andernfalls würde es beim Subklonieren zur Entmischung kommen, und es gäbe nur noch Kolonien der Parentalkonfigurationen.

Schließlich sollte noch die Segregation über eine größere Anzahl von Generationen hinweg untersucht werden: Aus einer Sporenkreuzung derselben Stämme ($(D^R A^R)S$ - Häufigkeit hier 48,1%) (Tab.52) wurden zwei individuelle Sporenisolate über 10 Wachstumspassagen in Glucose-Flüssigmedium hinweg untersucht. Dabei durchliefen sie insgesamt ca.170 Generationen. Ein Reagenzglas mit Glucosemedium wird mit ca. $5 \times 10^2 - 10^3$ Zellen angeimpft und bis zur stationären Zellphase geschüttelt. Aus der stationären Kultur wird wieder ein Röhrchen beimpft usw. Dieser Vorgang wurde 10-mal wiederholt. Am Anfang und Ende jeder solchen Passage - einige Male auch zwischendurch - wurden Proben entnommen und der Zelltitel und die Verteilung der mtResistenzmarker bestimmt.

Eines der untersuchten Isolate war vom Paarungstyp h^- , das andere h^+ , beide waren prototroph.

Die Genotyphäufigkeiten und Ihre Veränderungen in den beiden Klonen ($A^R D^R$) S - $1h^-$ ADE URA und ($A^R D^R$) S - $2h^+$ ADE URA zeigt Tab.52.

Die Häufigkeit der Doppelresistenten nimmt bei ($A^R D^R$) S -1

von über 60% und bei $(A^R D^R)^S$ -2 von ca. 50% auf unter 5% ab. Diese Abnahme wurde in Fig.53 gegen die durchlaufenen Generationen aufgetragen. Die Anzahl der doppelseksiblen Rekombinanten bleibt dagegen konstant. Im Isolat Nr.1 setzt sich die Antimycinresistenz (ca.74% Transmission) gegen Diuron, im Isolat 2 die Diuronresistenz (ca.80% Transmission) gegen Antimycin durch.

Auch nach 170 Generationen fortlaufender Zellteilungsaktivität ist die Segregation in haploiden Sporen noch nicht abgeschlossen.

Im Vergleich zu den Zygoten, wo nach ca.90 Generationen diploiden Wachstums (vgl. Segregation bei wiederholtem Plattieren, Tab.44) je nach Genotyp 35-100% der Klone uniform sind, läuft die Segregation in haploiden Zellen langsamer ab. Der heteroplasmische Zustand in Sporenklonen überdauert 170 Generationen.

ZUSAMMENFASSUNG ZU TEIL III

- Das Segregationsverhalten in *Sch.pombe* - Zellen wird von mehreren Komponenten bestimmt:
 - Eine Komponente ist schon ohne Zellvermehrung aktiv (nachgewiesen durch Aushungierung von Zygotenklonen auf N-freiem Medium).
 - Die andere wird während des Wachstums wirksam. Bei diesem Mechanismus kann es sich aber nicht um das passive Herausverdünnen mtDNS-Moleküle handeln, da die Segregation sonst nach 1000 Zellgenerationen immer noch nicht abgeschlossen wäre (Michaelis, 1967).

Die Segregation unter Wachstumsbedingungen führt zwar in den meisten Zellen schnell zu uniformen (homoplasmischen) Klonen. Der heteroplasmische Zustand bleibt aber in einigen Zellen über viele Generationen (ca.90 Generationen in diploiden, ca.170 Generationen in haploiden Zellen geprüft) aufrechterhalten. Auch einige Passagen über Antibiotikamedien führen dabei nicht in allen Diploiden zur Fixierung des Resistenz- bzw. Sensitivitätsallels.

Der Vorgang des Uniformwerdens ohne Zellvermehrung scheint in Sporen und daraus hervorgehenden haploiden Klonen nicht abzulaufen, da Verzögerung der Sporenkeimung im Gegensatz zur Hemmung der Zygotenteilung keine Verschiebung im Verhältnis zwischen homo- und heteroplasmischen Klonen hervorruft.

FIGUREN UND TABELLEN ZU TEIL III

(Die Zahlenangaben in den Tabellen sind in Prozenten ausgedrückt.)

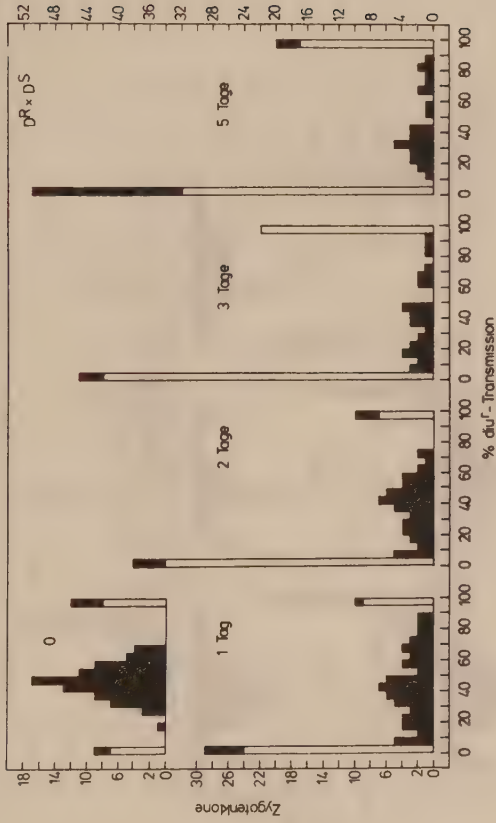


Fig. 24: Transmissionmuster der mitochondrialen Diuronresistenz in Zygotenkklonen der monofaktoriellen Kreuzung diu^r-301 ade⁷-50h⁻ x mei¹-140 leu¹ (D^{Rh}-x D^Smei¹) zu verschiedenen Zeitpunkten der Aushagerung der Zygoten (Tag0 bis Tag5)

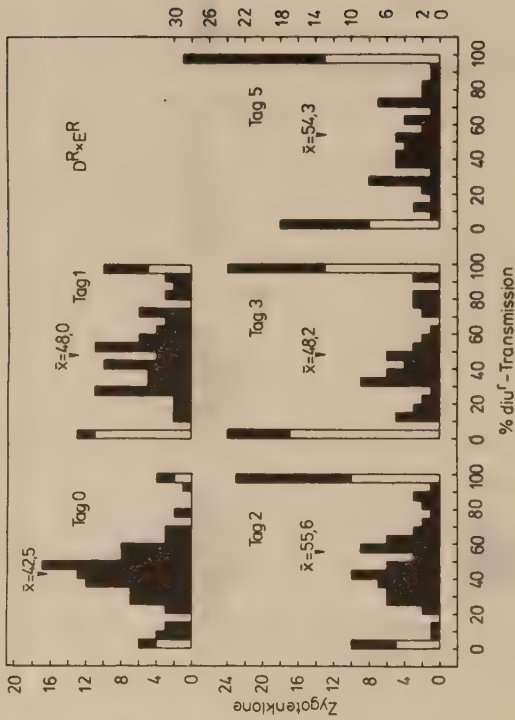


Fig. 25: Transmissionsmuster der mitochondrialen Diuronresistenz in Zygotenkklonen der bifaktoriellen Kreuzung in trans-Konfiguration $diu^R-301 ade7-50h^- \times ery^R-114 meil-102 lys4-95 (D^R_h \times E^R_{meil})$ zu verschiedenen Zeitpunkten der Aushagerung der Zygoten

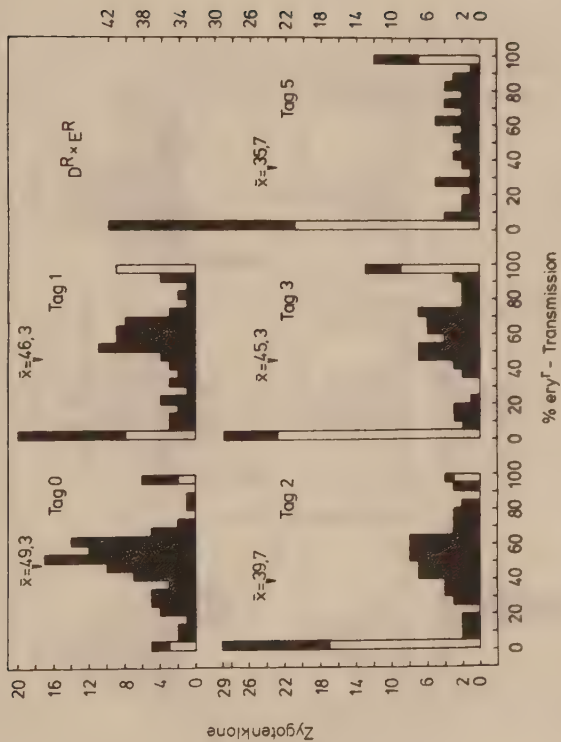


Fig. 46: Dieselbe Kreuzung wie in Fig. 25 beschrieben, nur Erythromycin-Resistenz-Transmission

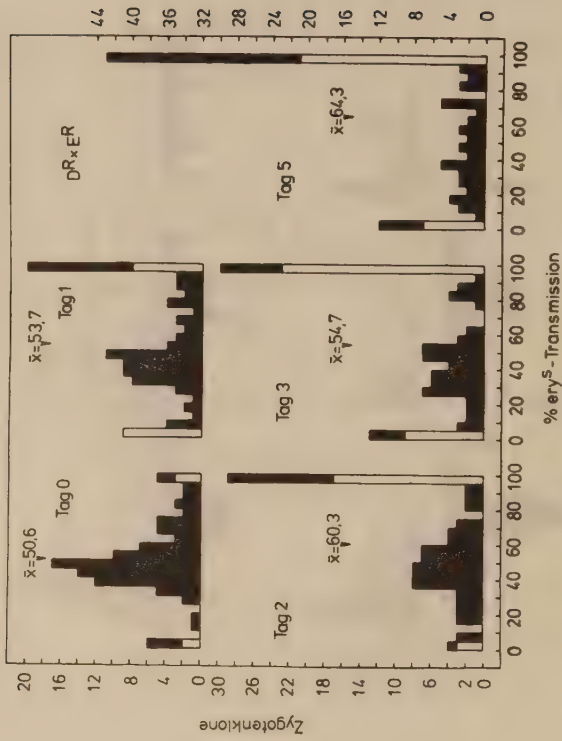


Fig. 27: Dieselbe Kreuzung wie in Fig. 25 beschrieben, nur Erythromycin-Sensitivitäts-Transmission

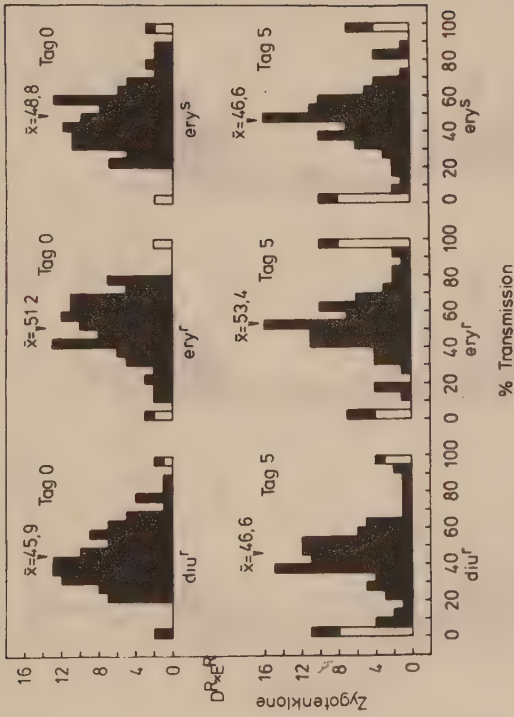


Fig. 28: Transmissionmuster der mitochondrialen Marker diu^f , ery^f und ery^s in Zygotenkklonen aus der Kreuzung $Dh^- \times E^R_{meil}$ im Kälte-Kontroll-Versuch: Die 5-tägige Aushagerung der Zygoten wurde bei $6^\circ C$ durchgeführt.

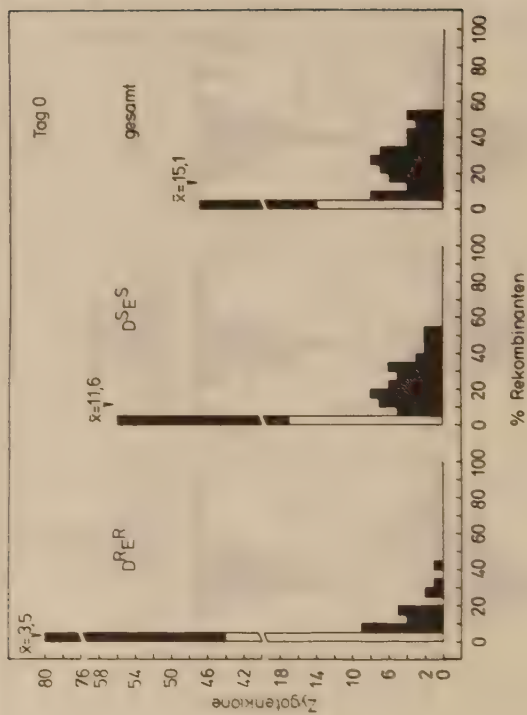


Fig. 29: Verteilung der Rekombinationshäufigkeiten in Zygotenkklonen der Kreuzung $D^R \times E^R$ vor der Aushagerung der Zygoten

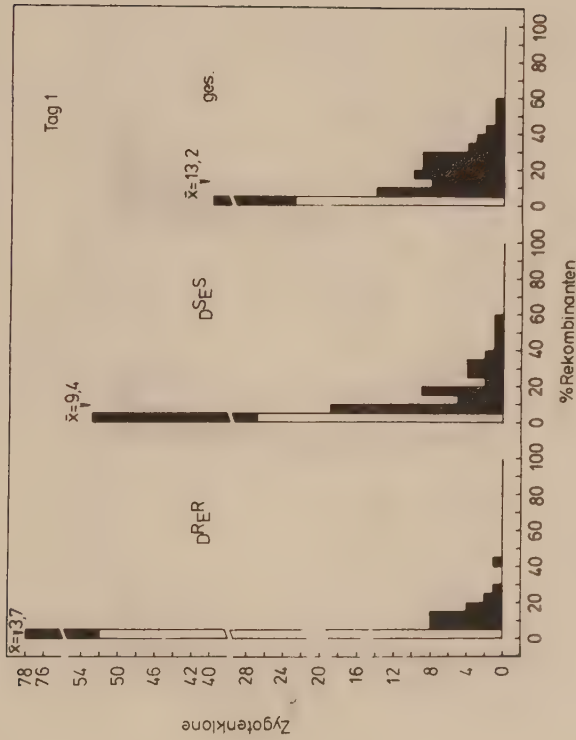


Fig. 30: wie Fig 29 , nur nach 1 Tag Zygotenaushungerung

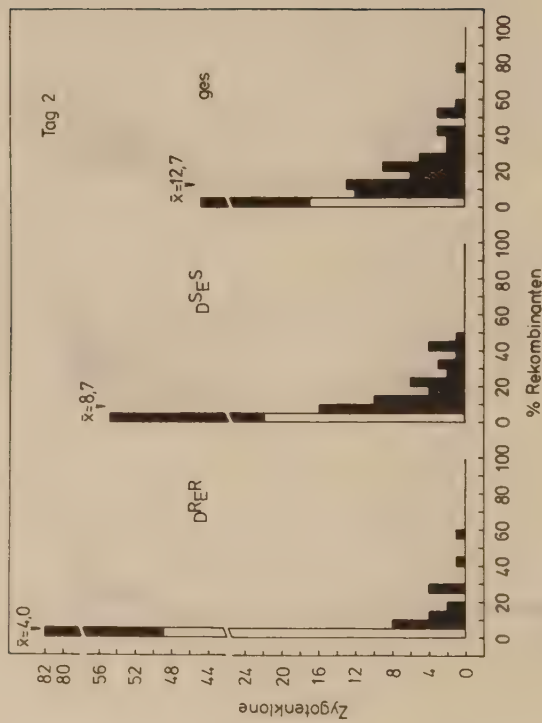


Fig. 31: wie Fig. 29, nur nach 2 Tagen Zygotenaushönerung

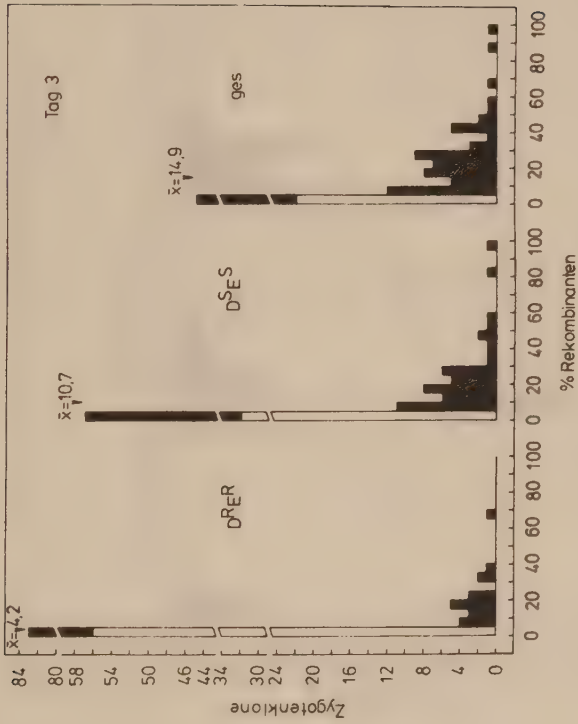


Fig. 32: wie Fig. 29, nur nach 3 Tagen Zygotenaushagerung

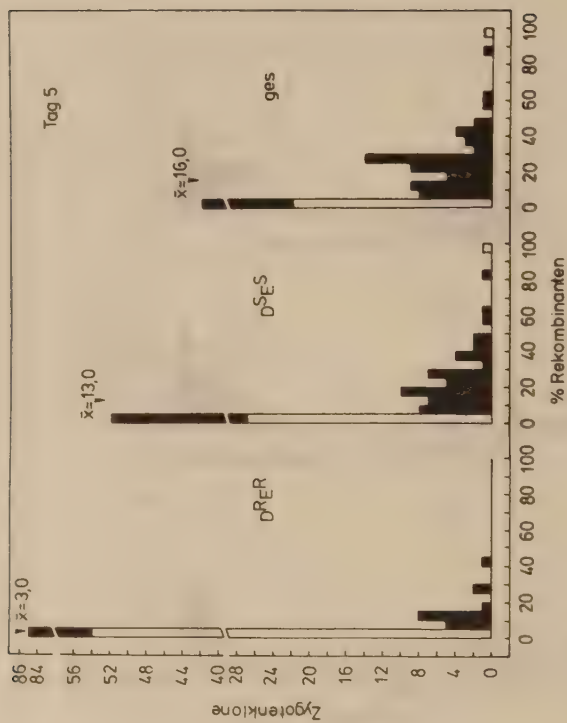


Fig. 33: wie Fig. 29, nur nach 5 Tagen Zygotenaushagerung

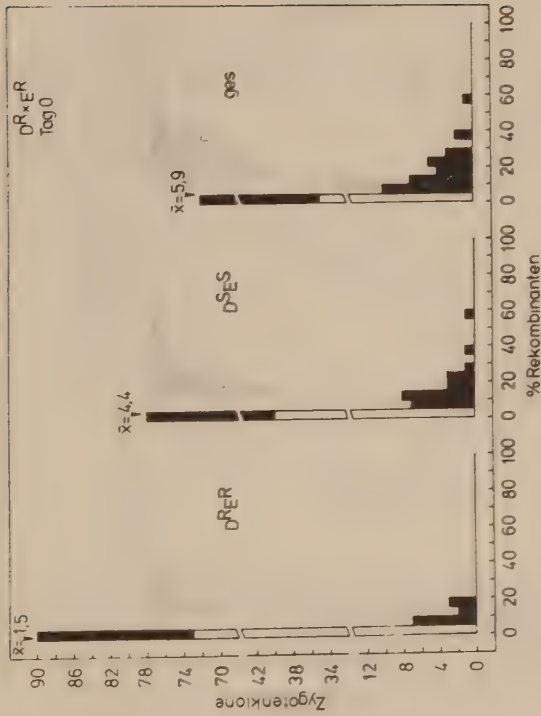


fig. 34: Verteilung der Rekombinationshäufigkeiten in Zygotenklonen der Kreuzung $D^R \times E^R$ im Kälte-Kontroll-Versuch vor der Aushungerung der Zygoten

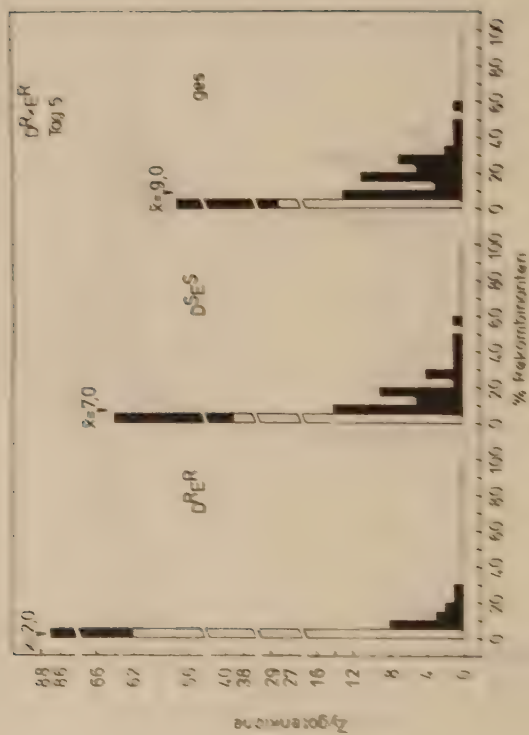


Fig. 15. wie Fig. 14, nur nach 5 Tagen Zygotenausschüttung

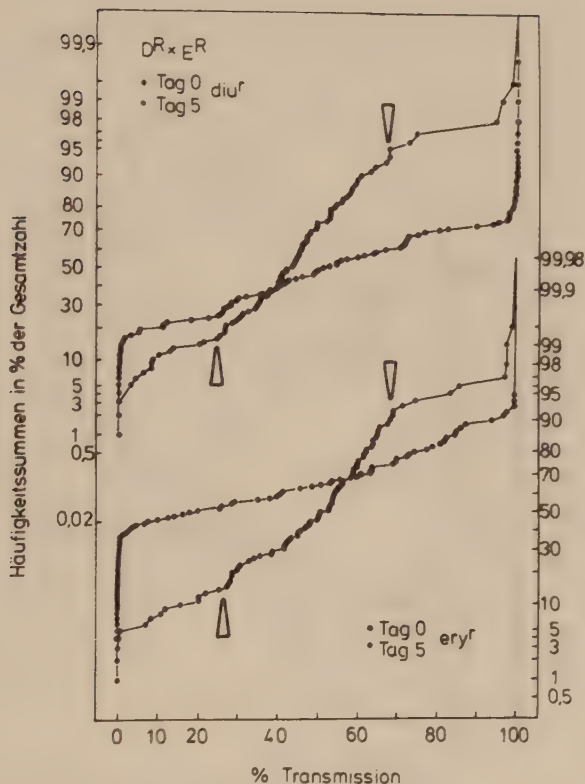


Fig. 36: Analyse der Transmission der mitochondrialen Marker diu^r und ery^r in individuellen Zygotenklonen aus der Kreuzung $diu^r-301 ade7-50h^- \times ery^r-114 mei1-102 lys4-95$ ($D^{R_h} \times E^{R_{mei1}}$) unter Verwendung der Gauß'schen Skala.

Vergleich: Transmission vor und nach 5 Tagen Zygotenaushungierung

Die linke Gaußskala gilt für die beiden oberen Kurven (diu^r), die rechte für die unteren (ery^r)

Die Pfeile markieren Anfang und Ende der Gauß-Verteilung.

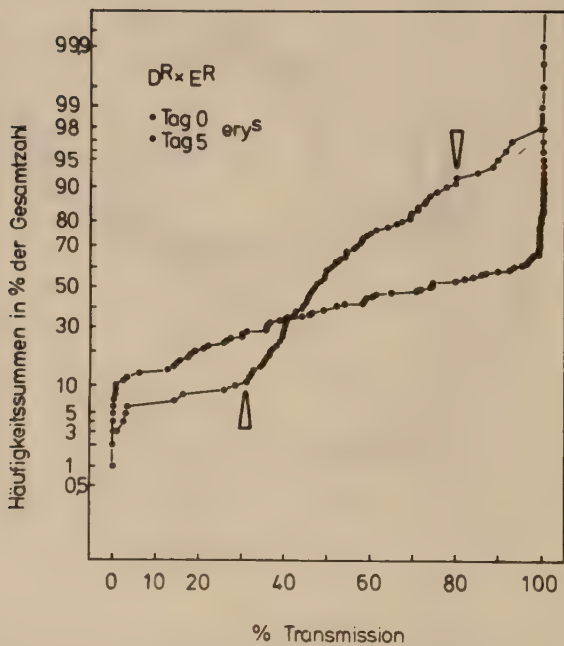


Fig. 37: wie Fig.36, nur ery^S - Transmission

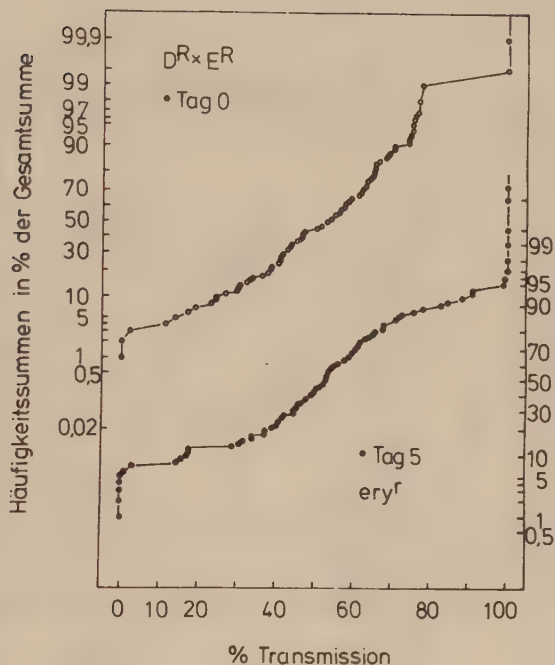


Fig. 38: Analyse der Transmission des mitochondrialen Markers ery^r in Zygotenklonen aus der Kreuzung $D^{Rh-} \times E^R$ im Kälte-Kontroll-Versuch unter Verwendung der Gauß'schen Skala.

Vergleich: Transmission vor und nach 5 Tagen Zygoten-aushungerung

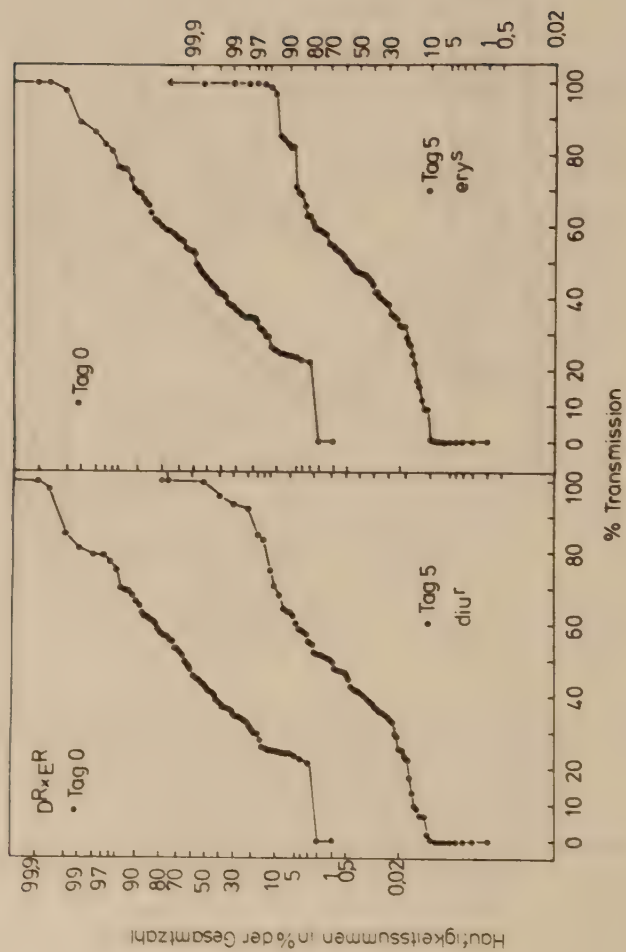


Fig. 39: wie Fig. 38, nur diu^r- und ery^s-Transmission

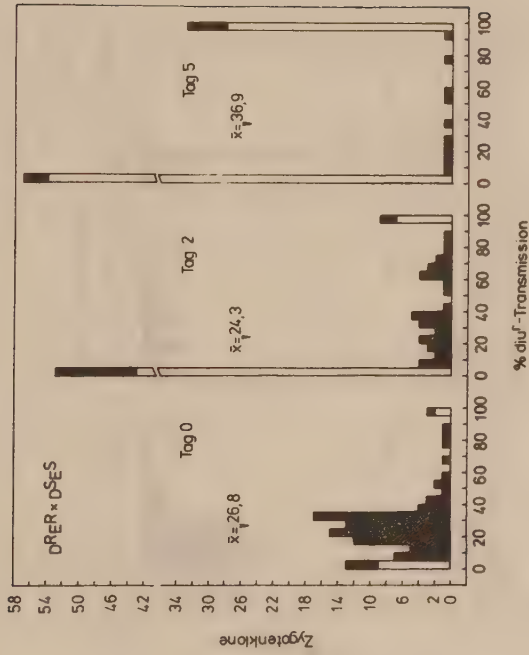


Fig. 40: Transmissionmuster der mitochondrialen Oronresistenz in Zygotenanalysen der bifaktoriellen Kreuzung in cis-Konfiguration $diu^I-301\ ery^I-100\ lys4-95h^- \times mei1-140\ leu1\ (D^{R_h} \times D^{S_{mei1}})$ zu verschiedenen Zeitpunkten der Aushungerung der Zygoten

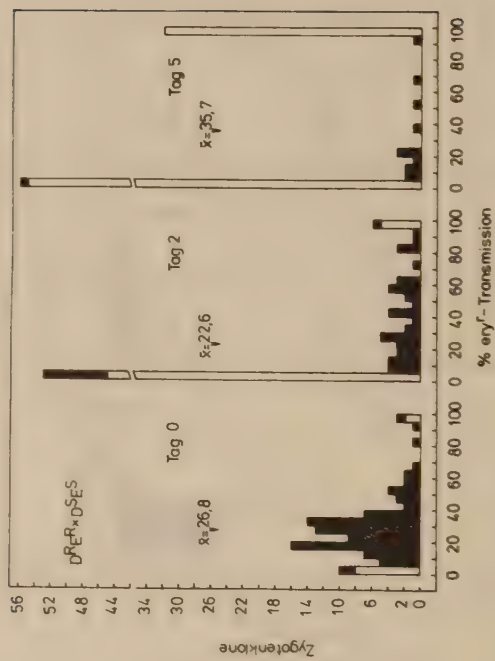


Fig. 41: wie Fig. 40, nur Erythromycinresistenz-Transmission

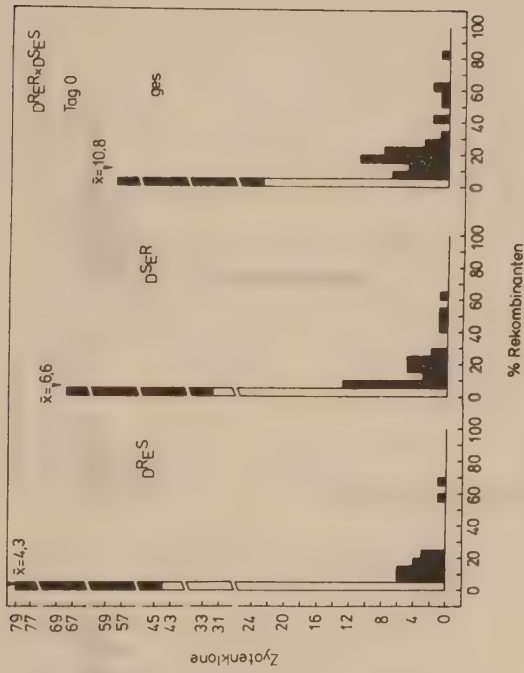


Fig.42: Verteilung der Rekombinationshäufigkeiten in Zygotenanalysen der Kreuzung $D^{R-R} \times D^{S-S}$ meil vor der Aushungerung der Zygoten

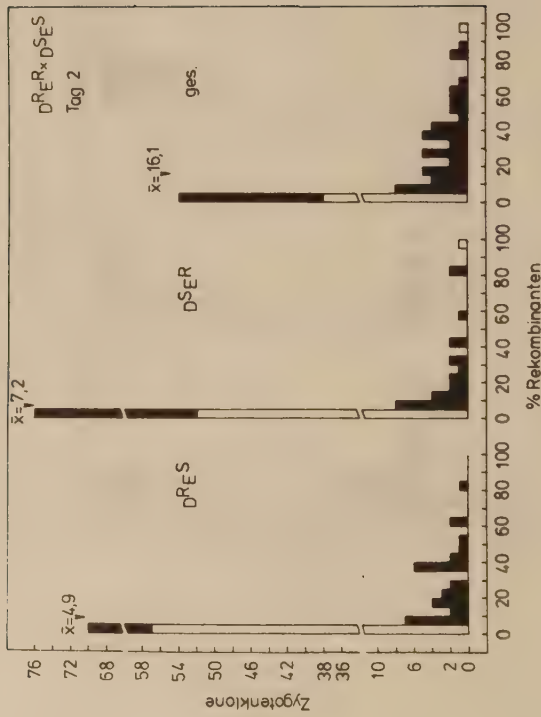


Fig. 43: wie Fig. 42, nur nach 2 Tagen Zygotenauswässerung

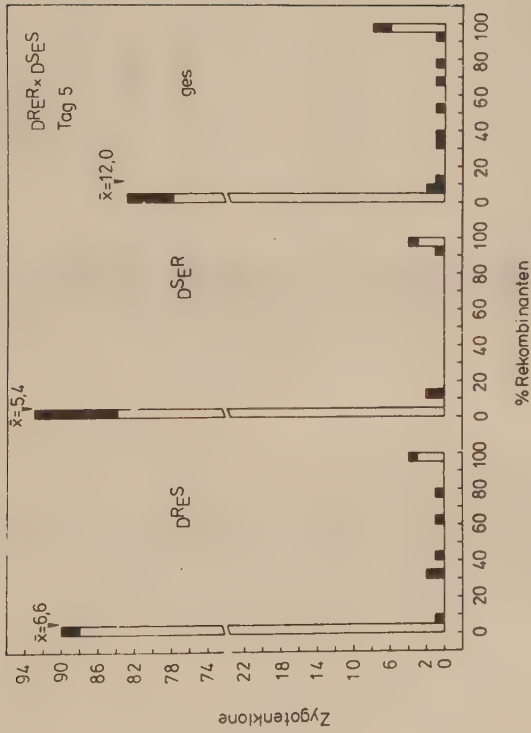


Fig. 44: wie Fig. 42, nur nach 5 Tagen Zygotenaushöpfung

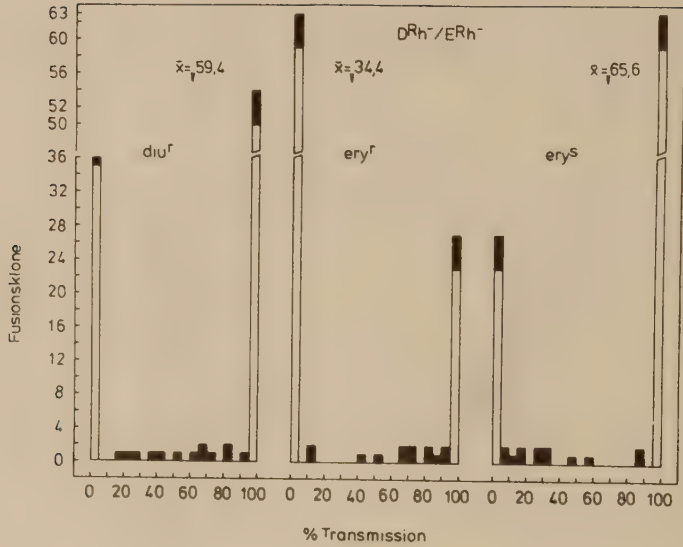


Fig. 45: Transmissionsmuster der mitochondrialen Marker diu^r, ery^r und ery^s in Fusionsklonen aus der Fusion zwischen den Stämmen diu^r-301 ade7-50h⁻/ery^r-128 lys4-95h⁻ (D^Rh⁻/E^Rh⁻)

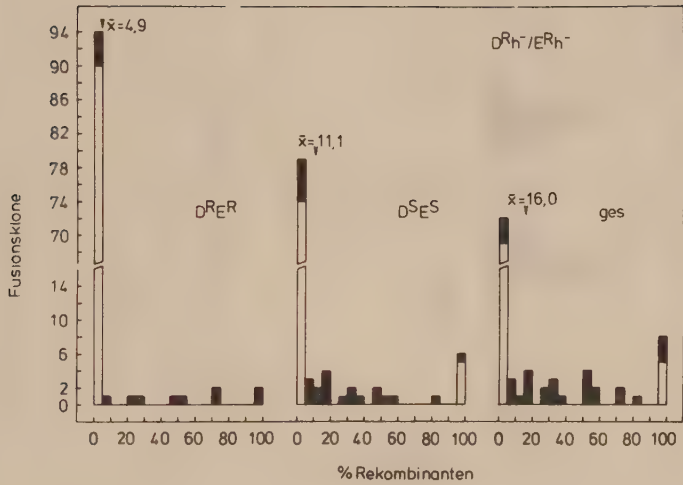


Fig. 46: Verteilung der Rekombinantenhäufigkeiten in Fusionsklonen aus der Fusion zwischen $D^{R_h^-}/E^{R_h^-}$ - Stämmen
(dieselbe Fusionskreuzung wie in Fig.45)

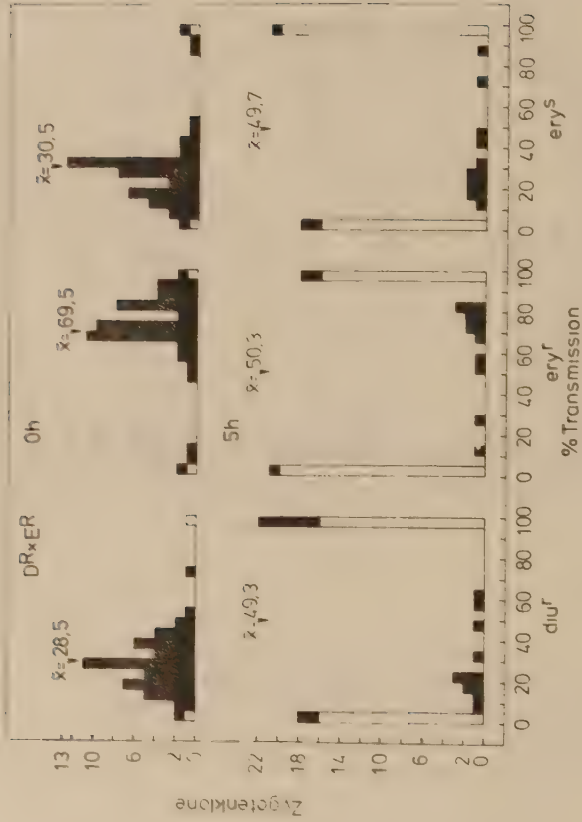


Fig. 47a: Transmissionmuster der mitochondrialen Marker diu^r , ery^r und ery^s in Zygotenklonen der Kreuzung $diu^r-301 ade7-50h^- \times ery^r-114 meil-102 lys4-95 (DR_h^- \times ER_{meil})$ vor und nach 5 Stunden Bebrütung der Zygoten in flüssigem EMM-Medium (Segregation in Zygoten unter wachsenden Bedingungen)

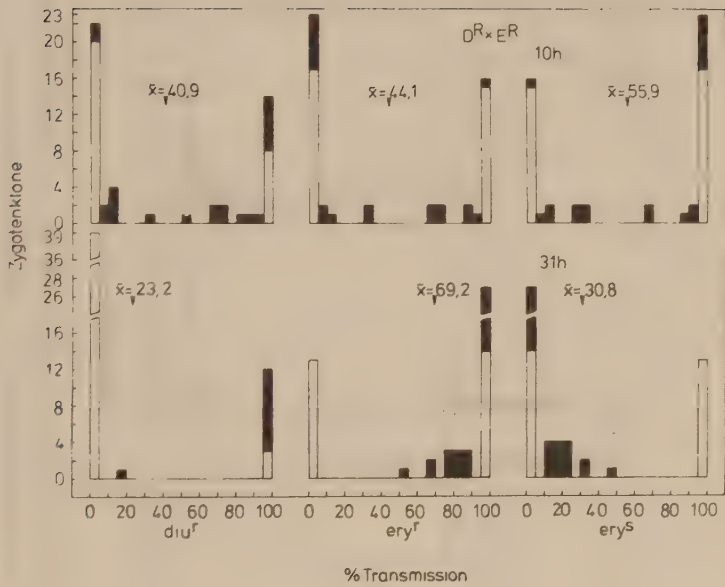


Fig. 47b: wie Fig. 47a, nur nach 10 und 31. Stunden
Zygotenbebrütung in EMM flüssig

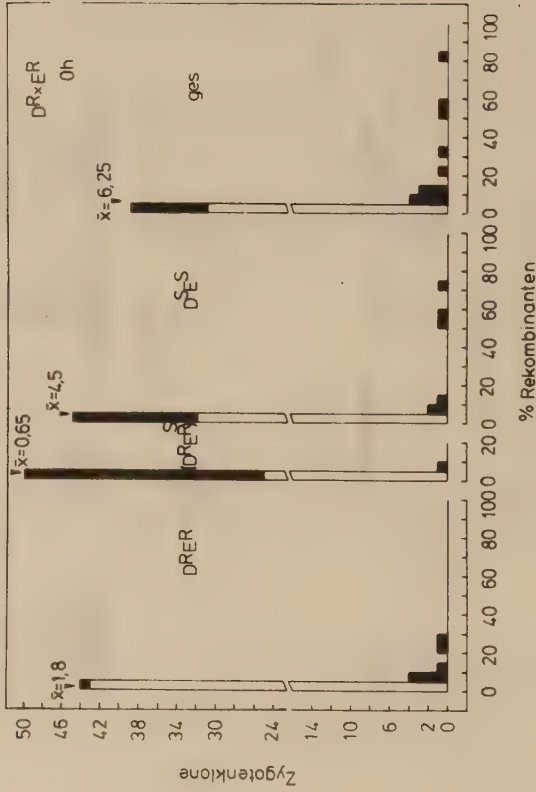


Fig. 48a: Verteilung der Rekombinantenhäufigkeiten in Zygotenklonen aus der Kreuzung $D^R \times E^R$ vor Wachstumsbeginn in Flüssig-Minimalmedium

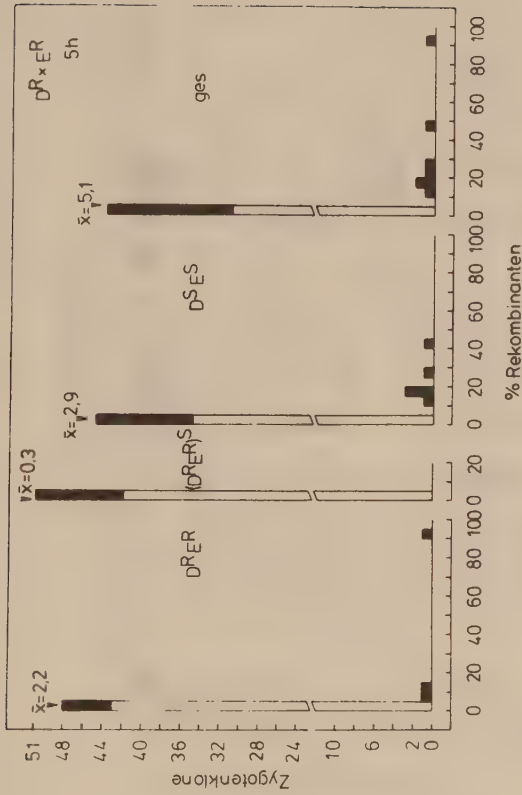


Fig. 48b: wie Fig. 48a, nur nach 5 Stunden Zygotenbebrütung in EMM-Flüssigmedium

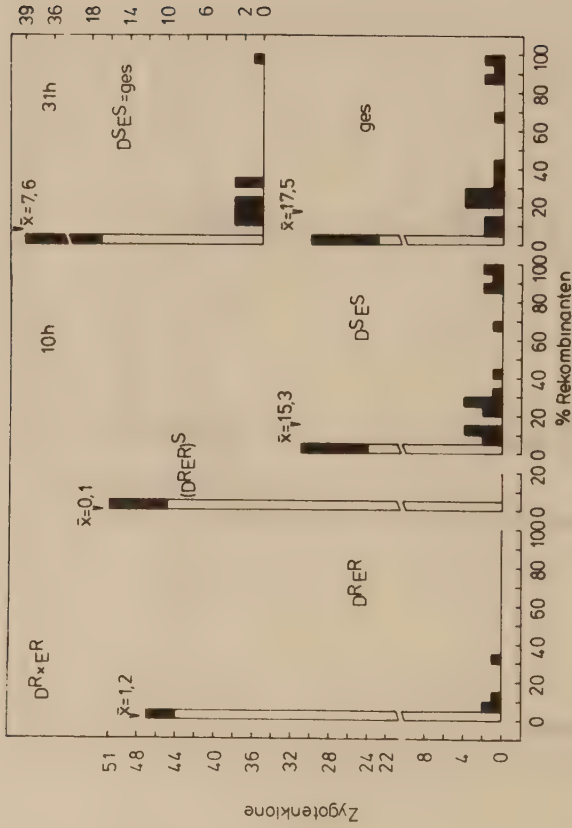


Fig. 48c: wie Fig. 48a, nur nach 10 und 31 Stunden Zygotenbebrütung in EMM-Flüssigmedium
Nach 31 Stunden treten keine doppelt resistenten Rekombinanten auf, deshalb
ist die Anzahl der doppelt sensiblen gleich der Gesamtzahl an Rekombinanten

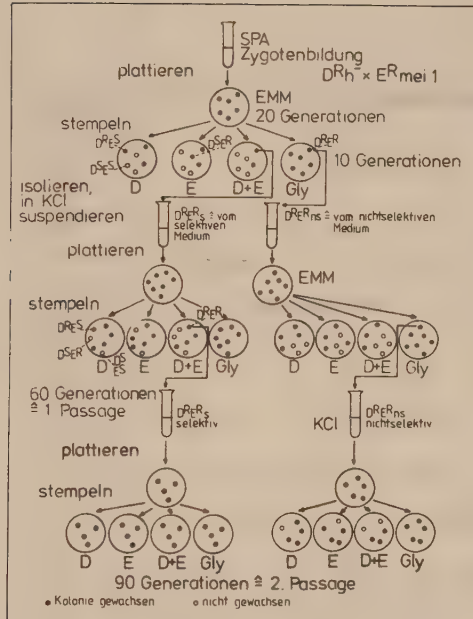


Fig. 49 : Schema zur Versuchsanordnung:

Segregation bei wiederholtem Plattieren von diploiden Isolaten aus der Kreuzung

$diu^R-301 ade7-50h^- \times ery^R-114 mei1-102 lys4-95$

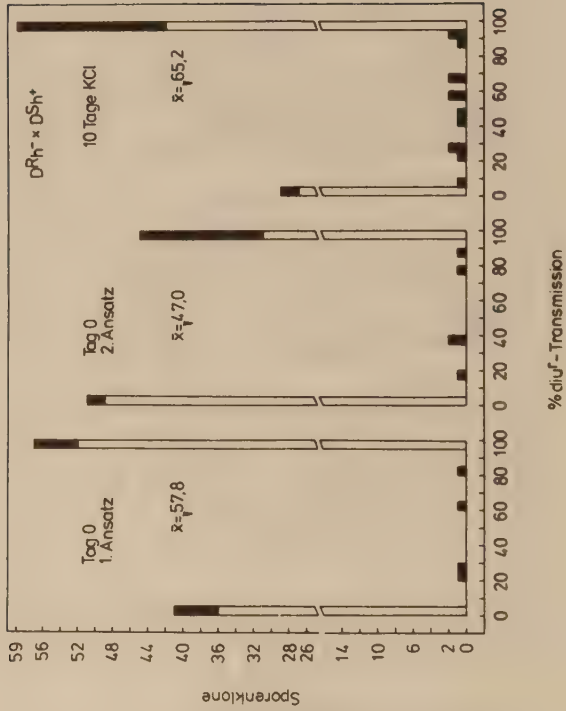


Fig. 50: Vergleich der Transmissionsmuster der mitochondrialen Diuronresistenz in Sporenklonen der Kreuzung $D^{R_h^-} \times D^{S_h^+}$ (D^{R_h-} x D^{S_h+}) vor und nach 10 Tagen Aushungerung der Sporen in KCl-Lösung

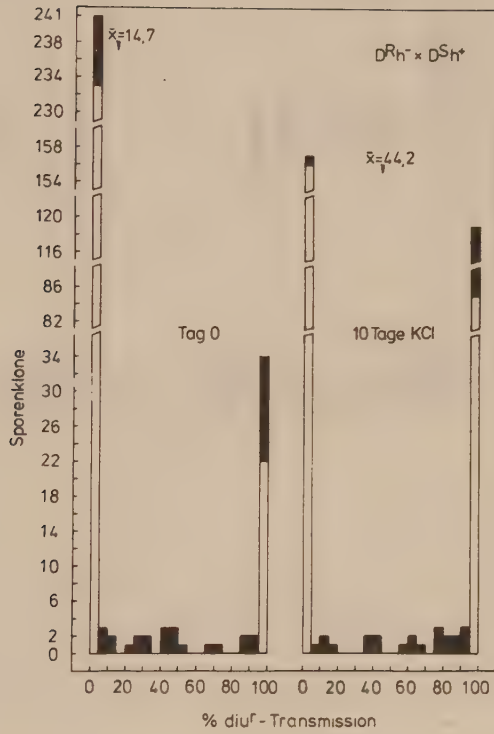


Fig. 51: wie Fig. 50, nur nach Zwischenbebrütung der Diploiden in flüssigem EMM-Medium

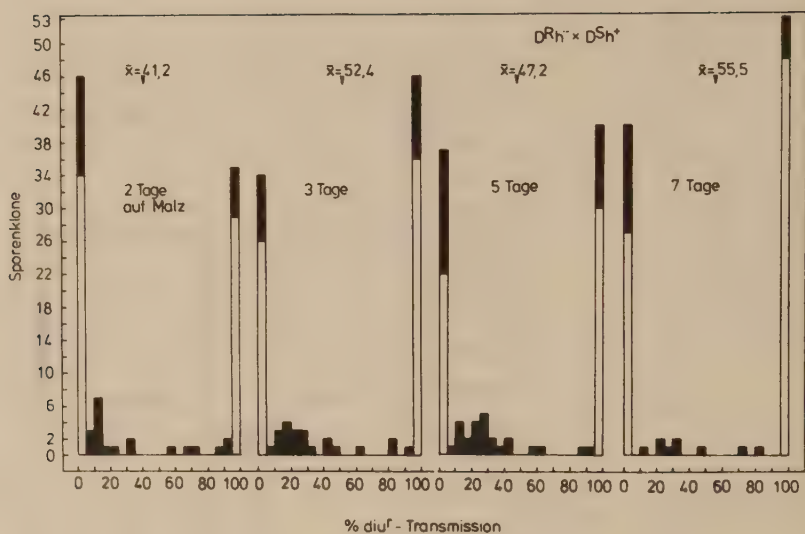


Fig. 52: Vergleich des Transmissionsmusters der mitochondrialen Diuronresistenz in Sporenklonen aus der Kreuzung $diu^R-301 ade7-50h^- \times ura1-171h^+ (D^R h^- \times D^S h^+)$ nach unterschiedlicher Zeit (2-7 Tage) zur Sporenbildung auf Malzagar

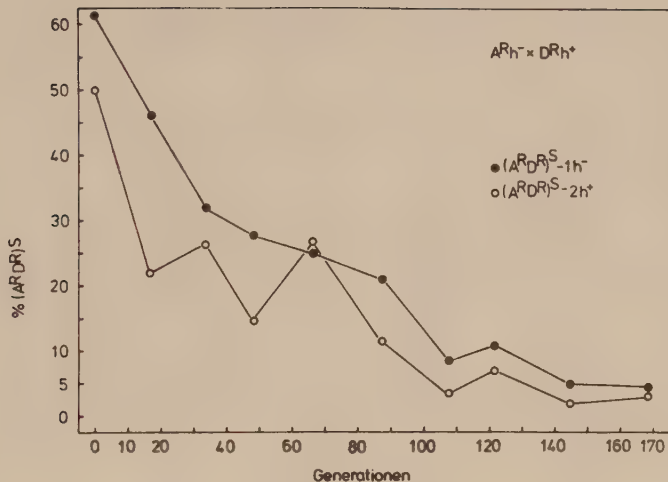


Fig. 53: Abnahme der Häufigkeit des $(A^{R,D})^S$ -Phänotyps (Zellen wachsen auf Gly+A und Gly+D, aber nicht auf Gly+A+D) in Abhängigkeit durchlaufener Zellgenerationen.

Geprüft wurden zwei prototrophe haploide Isolate $(A^{R,D})^S-1h^-$ und $(A^{R,D})^S-2h^+$ aus der Kreuzung $ana_I^{-14} ade7-50h^- \times diu_I^{-301} ura1-171h^+$ durch wiederholte Zellvermehrungsperioden in flüssigem Glucosemedium. Aus den Flüssigkulturen wurden Proben auf Glucose plattiert und auf Selektivmedien gestempelt.

Tab. 36

Mittelwerte und Varianzen
in Zygotenanalysen mit Aushungerung aus der Kreuzung
 $diu^r-301h^-ade^- \times mei1-102 \text{ } ura^-arg^-$

Tage auf SPA	D^R -Transmission			
	$\bar{x}$		Varianz	BP
	Standard- kreuzun- gen	Zygoten- klon- analysen	alle Zygoten	
0	48,9	48,7	666	339
1	48,8	35,1	1201	779
2	45,6	29,2	1015	629
3	47,3	35,0	1685	641
5	47,9	32,5	1610	962

Tab. 37

diu^r- 301 x ery^r- 114 mei1

Zygotenanalysen mit Aushungerung (Tag 0)

Nr.	D ^{RES} _P	D ^{SER} _P	D ^{RE} _R	D ^{SES} _R	Kol.
1	0	100	0	0	731
2	0	97,6	0	2,4	542
3	0	97,2	0	2,8	580
4	0	72,4	27,6	0	648
5	0	64,4	0	35,6	736
6	0,2	91,2	5,7	2,9	1154
7	0,3	53,5	8,1	38,1	963
8	0,4	58,6	40,3	0,7	561
9	1,7	75,4	8,3	14,7	422
10	2,3	60,8	0,8	36,0	1024
11	3,2	64,6	0,8	31,4	711
12	7,2	47,5	0,7	44,6	442
13	7,3	38,3	0,8	53,6	619
14	12,4	58,5	0,1	28,9	699
15	12,5	85,9	0,7	0,9	559
16	13,1	32,5	26,6	27,7	541
17	18,9	47,2	16,6	17,3	434
18	19,3	58,6	6,2	15,9	503
19	20,3	68,7	0	11,0	783
20	21,3	56,9	0,2	21,6	670
21	24,0	29,9	0,3	45,8	321
22	24,4	71,5	3,0	1,1	627
23	26,6	57,7	1,8	13,9	610
24	26,8	71,0	0,3	1,8	656
25	27,0	53,6	0,5	18,9	1165
26	27,9	35,6	32,5	4,1	1007
27	28,5	44,4	0,9	26,1	655
28	29,1	26,7	15,4	28,7	654
29	29,6	58,8	1,2	10,4	946
30	31,0	69,0	0	0	1199
31	31,0	67,1	0,3	1,5	596
32	32,7	46,1	0	21,2	542
33	33,4	48,2	0,5	17,9	419
34	34,2	57,2	0	8,6	544
35	34,3	64,4	0	1,3	629
36	35,1	64,9	0	0	558
37	35,2	64,7	0	0,1	697
38	36,9	57,3	0	5,8	791
39	37,1	24,2	10,1	28,6	720
40	37,5	61,6	0,7	0,2	670
41	37,8	62,2	0	0	508
42	37,8	53,2	1,5	7,5	585
43	37,8	27,5	0	34,7	881
44	38,7	58,3	0,9	2,1	566
45	39,1	54,4	5,9	0,6	916

Tab. 37, Fortsetzung

Nr.	$D_{P}^{R\ E\ S}$	$D_{P}^{S\ E\ R}$	$D_{R}^{R\ E\ R}$	$D_{R}^{S\ E\ S}$	Kol.
46	39,2	58,8	0,6	1,4	837
47	39,3	50,1	10,2	0,3	615
48	39,4	60,0	0	0,6	898
49	40,2	26,5	0,5	32,8	914
50	40,4	52,3	0,4	6,9	753
51	40,9	59,1	0	0	631
52	41,3	54,9	0	3,8	637
53	41,6	54,4	0,8	3,1	711
54	42,1	55,1	0,3	2,4	622
55	42,3	5,5	5,3	46,9	433
56	43,2	53,5	1,1	2,2	724
57	43,6	38,6	0	17,8	658
58	43,8	53,7	0	2,5	628
59	44,3	55,6	0	0,1	932
60	44,7	54,8	0	0,5	662
61	45,0	24,6	0	30,4	842
62	45,3	53,4	0	1,3	781
63	45,5	53,4	0	1,1	846
64	45,8	54,2	0	0	653
65	46,0	52,4	1,5	0,1	867
66	46,0	50,5	0	3,5	876
67	46,0	42,5	0	11,5	524
68	46,7	0	0	53,3	807
69	47,6	28,6	0	23,8	703
70	48,0	42,4	8,2	1,5	687
71	48,2	51,8	0	0	512
72	48,4	50,6	0	0,9	634
73	49,4	33,9	8,2	8,4	583
74	49,7	50,3	0	0	537
75	49,8	50,2	0	0	625
76	49,8	49,9	0	0,3	872
77	49,8	16,7	3,3	30,2	820
78	49,9	20,9	10,0	19,2	569
79	51,2	23,8	3,4	21,6	1018
80	51,5	5,5	1,7	41,3	639
81	51,8	47,9	0,2	0	976
82	52,2	46,9	0,7	0,2	997
83	52,5	5,9	17,1	24,5	777
84	52,8	47,1	0,1	0	828
85	53,2	45,3	0	1,5	720
86	53,2	18,4	14,4	14,0	577
87	54,2	45,3	0,1	0,4	921
88	56,0	25,2	3,5	15,3	780
89	56,3	43,7	0	0	756
90	56,9	43,1	0	0	369
91	57,2	40,7	0	2,1	435
92	57,7	42,3	0	0	601
93	58,2	11,9	18,6	11,2	570
94	61,6	7,1	1,2	30,1	674

Tab. 37, Fortsetzung

Nr.	$D_{P}^{R E S}$	$D_{P}^{S E R}$	$D_{R}^{R E R}$	$D_{R}^{S E S}$	Kol.
95	62,7	10,8	4,5	22,1	761
96	63,9	35,9	0	0,2	549
97	70,1	6,6	5,1	18,2	941
98	77,3	2,4	17,6	2,7	550
99	96,4	0,2	0	3,4	497
100	99,2	0,5	0	0,3	386
101/102	100	0	0	0	249/236
Durchschnitt	39,1	45,8	3,5	11,6	
Standardkreuzung	42,5	46,1	4,2	7,2	1942

Tag 1

Durchschnitt	44,3	42,6	3,7	9,4	
Standardkreuzung	46,7	44,4	5,3	3,6	2860

Tab. 37, Fortsetzung

Tag 1

Nr.	D ^R E ^S P	D ^S E ^R P	D ^R E ^R R	D ^S E ^S R	Kol.
1-9	0	100	0	0	ca.500 ^{*)}
10	0	92,0	0	8,0	240
11	0	89,9	0,2	9,9	614
12	0	65,3	0	34,7	498
13	2,4	79,5	13,7	4,4	409
14	2,5	74,9	8,5	14,1	199
15	3,0	66,2	0	30,7	296
16	8,0	71,3	19,3	1,2	602
17	8,7	77,6	8,3	5,4	1126
18	11,7	80,5	0,8	6,9	605
19	22,3	69,1	5,5	3,1	685
20	24,0	75,7	0	0,2	408
21	24,4	24,2	0	51,4	385
22	25,3	60,9	0	13,8	891
23	26,1	52,6	3,1	18,2	445
24	27,0	73,0	0	0	396
25	27,3	64,8	0	7,9	673
26	28,4	65,9	0,6	5,0	320
27	28,7	71,1	0	0,3	1141
28	29,0	65,8	0	5,1	644
29	29,7	52,6	0	17,7	814
30	29,8	64,8	0	5,4	409
31	30,3	58,1	9,2	2,3	346
32	31,1	66,9	1,4	0,6	856
33	31,3	59,2	3,6	5,9	674
34	31,3	12,5	0	56,2	536
35	31,6	61,5	0,3	6,6	304
36	32,4	42,1	10,4	15,0	299
37	32,9	25,7	40,1	1,3	716
38	33,7	66,3	0	0	590
39	34,4	26,2	25,4	13,9	244
40	35,7	40,4	10,2	13,7	255
41	36,2	63,7	0	0,1	967
42	36,3	44,9	0,6	18,2	859
43	36,6	45,7	11,1	6,6	696
44	37,2	62,4	0,3	0,1	702
45	38,5	59,2	2,2	0	537
46	38,9	39,2	20,5	1,5	679
47	39,2	60,8	0	0	306
48	39,3	34,9	16,9	8,8	804
49	40,8	55,9	0	3,3	365

^{*)} aus Platzgründen wird auf die Anzahl der tatsächlich geprüften Kolonien verzichtet

Tab. 37, Fortsetzung

Nr.	D ^R E ^S P	D ^S E ^R P	D ^R E ^R R	D ^S E ^S R	Kol.
50	41,0	39,0	0	19,9	346
51	41,0	34,1	0	24,9	637
52	41,1	58,9	0	0	925
53	41,4	44,1	13,3	1,2	969
54	41,9	58,1	0	0	351
55	42,4	51,2	0	6,4	779
56	42,9	49,7	7,2	0,2	499
57	43,1	31,8	22,9	2,2	777
58	43,2	56,8	0	0	929
59	44,0	43,2	9,3	3,5	922
60	44,1	14,1	0	41,9	547
61	45,9	54,1	0	0	714
62	46,1	51,6	2,2	0	490
63	46,2	34,5	17,1	2,1	935
64	50,5	3,8	0,5	45,2	396
65	51,7	16,5	0	31,8	820
66	52,5	20,4	1,7	25,4	343
67	53,2	46,8	0	0	372
68	53,6	46,4	0	0	405
69	54,4	43,8	0	1,8	456
70	54,5	17,1	4,7	23,7	633
71	54,8	45,1	0,1	0	810
72	55,3	28,2	9,0	7,5	611
73	55,8	5,3	0	38,9	1000
74	58,5	41,0	0	0,5	775
75	58,5	21,0	13,0	7,5	1133
76	59,5	40,5	0	0	659
77	62,3	23,0	11,3	3,5	400
78	63,0	0,9	0	36,1	571
79	64,0	9,6	18,0	8,4	617
80	64,3	5,9	0,6	29,3	711
81	64,5	14,6	5,8	15,1	364
82	65,2	0	0,5	34,4	442
83	66,8	15,6	0	17,5	377
84	71,9	0,9	0,2	27,0	540
85	72,2	0	0	27,8	611
86	78,9	0,3	12,4	8,4	322
87	80,7	0,9	1,4	17,0	688
88	82,1	1,2	1,6	15,0	811
89	85,6	1,9	0,7	11,9	430
90	88,0	5,4	1,8	4,8	333
91	90,6	0	0	9,4	491
92	91,3	0,2	2,5	6,1	611
93	95,9	0	0	4,1	563
94	96,4	0	3,0	0,6	501
95	96,6	0,6	2,1	0,6	327
96	96,7	0	0	2,3	276
97	96,7	0	3,3	0	273
98	97,8	0,3	0	1,9	735
99-102	100	0	0	0	ca. 500

Tab. 37, Fortsetzung Tag 2

Nr.	D ^R E ^S P	D ^S E ^R P	D ^R E ^R R	D ^S E ^S R	Kol.
1-3	0	100	0	0	ca.500
4	0	99,2	0	0,8	391
5	0	94,6	0	5,4	387
6	0	91,5	0,2	8,3	520
7	0	80,7	3,9	15,4	436
8	0	78,6	0,7	20,7	735
9	1,2	75,1	2,9	20,8	684
10	2,0	84,3	6,3	7,4	511
11	3,8	45,5	0,8	49,9	661
12	12,7	35,8	7,9	43,6	528
13	13,2	74,3	0,4	12,1	1361
14	15,5	59,2	25,3	0	958
15	15,6	4,8	41,9	37,7	903
16	16,4	57,6	25,2	0,8	992
17	16,5	50,9	12,4	20,2	450
18	20,0	70,9	0	9,1	529
19	24,4	53,4	1,2	21,0	663
20	24,8	61,3	7,7	6,2	483
21	24,9	70,6	4,5	0	762
22	26,6	42,9	0,2	30,3	489
23	27,5	58,8	0	13,7	386
24	28,0	71,9	0	0,1	810
25	28,2	54,5	2,0	15,3	666
26	30,3	66,0	1,0	2,7	1305
27	32,0	62,4	0	5,6	1529
28	32,5	63,0	2,2	2,3	741
29	33,5	52,9	2,4	11,2	544
30	34,9	64,9	0	0,2	1048
31	35,9	62,2	0	1,9	916
32	36,4	59,3	1,5	2,8	536
33	37,5	62,2	0	0,3	908
34	37,6	56,7	1,1	4,6	912
35	38,8	4,8	56,4	0	777
36	39,0	61,0	0	0	718
37	39,6	52,9	0	7,5	787
38	40,8	42,0	16,9	0,3	314
39	40,9	45,9	0	13,2	1048
40	41,2	58,3	0	0,5	345
41	41,4	58,6	0	0	585
42	41,7	48,0	6,3	4,0	1129
43	41,9	46,7	0	11,4	552
44	42,0	7,1	28,2	22,7	521
45	42,4	15,6	1,0	41,0	691
46	42,5	33,4	13,6	10,5	934
47	42,6	35,3	0,3	21,8	801
48	43,0	56,6	0	0,4	951

Tab. 37, Fortsetzung

Nr.	D ^R _E ^S _P	D ^S _E ^R _P	D ^R _E ^R _R	D ^S _E ^S _R	Kol.
49	43,5	29,5	1,8	25,2	603
50	44,6	53,3	0	2,1	495
51	45,4	52,6	0	2,0	588
52	47,3	52,1	0	0,6	890
53	47,4	52,0	0,3	0,3	880
54	47,8	48,7	0	3,5	538
55	49,4	38,3	12,1	0,2	496
56	50,7	25,5	17,2	6,6	824
57	51,7	48,3	0	0	414
58	51,7	43,1	0	5,2	874
59	53,6	3,1	0	43,3	422
60	54,5	42,1	2,1	1,3	620
61	55,1	41,8	0,4	2,7	692
62	56,1	0,2	1,8	41,9	453
63	56,9	40,3	2,8	0	504
64	57,4	21,0	9,1	12,5	886
65	57,8	37,1	0	5,1	882
66	59,0	29,6	4,8	6,6	987
67	59,3	27,5	0	13,2	1056
68	60,1	32,7	0,1	7,1	1045
69	60,2	1,7	4,6	33,5	239
70	60,3	38,6	0	1,1	653
71	62,3	2,4	1,5	33,8	1096
72	65,5	14,5	3,4	16,6	235
73	66,9	16,6	9,3	7,2	893
74	69,5	1,1	0,6	28,8	786
75	74,0	0,3	25,7	0	388
76	77,3	0	12,2	10,5	932
77	78,9	8,6	5,3	7,2	626
78	82,1	0	0	17,9	340
79	84,8	0	1,6	13,6	698
80	86,7	4,4	0,5	8,4	953
81	90,0	0	1,6	8,4	572
82	91,9	0,5	4,3	3,3	419
83	92,7	0	6,0	1,3	386
84	95,4	0	0	4,6	409
85	96,6	0,3	0	3,1	698
86	97,2	0,1	0	2,7	794
87	97,2	0	0	2,8	436
88	98,9	0	0	1,1	646
89/90	99,4	0	0	0,6	528/635
91	99,5	0,5	0	0	574
92	99,8	0,2	0	0	459
93	99,8	0	0	0,2	630
94-102	100	0	0	0	ca. 500
Durchsch.	51,6	35,7	4,0	8,7	
Standard- kreuzung	50,3	34,7	4,7	10,3	2138

Tab. 37, Fortsetzung

Tag 3

Nr.	$D_{P}^{R\bar{E}S}$	$D_{P}^{S\bar{E}R}$	$D_{R}^{R\bar{E}R}$	$D_{R}^{S\bar{E}S}$	Kol.
1-6	0	100	0	0	ca. 500
7	0	99,8	0	0,2	591
8	0	98,6	0	1,4	704
9	0	97,9	0	2,1	515
10	0	96,7	3,3	0	627
11	0	95,9	0	4,0	347
12	0	94,8	0	5,2	916
13	0	94,0	0	6,0	416
14	0	92,5	0	7,5	832
15	0	89,8	10,2	0	610
16	0	84,1	15,9	0	503
17	0	66,3	0	33,7	870
18	0	58,2	0	41,8	740
19	0	41,8	0	58,2	153
20	0	4,8	0	95,2	652
21	0,8	13,0	1,4	84,8	631
22	1,0	72,4	0,9	25,7	693
23	1,5	52,5	0	46,0	265
24	1,8	70,7	0	27,5	276
25	2,2	76,8	0	21,0	624
26	4,5	44,8	0	50,7	840
27	6,6	62,4	10,2	20,9	412
28	11,3	80,1	3,4	5,3	266
29	11,9	47,7	22,8	17,5	727
30	12,1	83,9	0	4,0	858
31	12,4	87,6	0	0	322
32	14,1	85,3	0,6	0	625
33	14,4	43,3	30,5	11,8	374
34	16,0	58,6	20,3	5,1	413
35	16,0	43,6	1,9	38,5	904
36	21,2	69,7	1,1	7,9	532
37	22,2	48,3	0,2	29,3	634
38	24,9	56,0	16,3	2,8	534
39	25,1	43,0	14,4	17,5	514
40	28,7	57,9	2,8	10,6	777
41	29,0	65,5	0	5,5	635
42	29,7	41,6	4,0	24,7	421
43	30,4	63,0	1,5	5,1	467
44	31,3	2,2	66,5	0	1072
45	32,1	63,9	2,1	1,9	377
46	32,2	67,8	0	0	603
47	32,9	37,5	1,6	28,0	496
48	33,2	57,3	0,5	9,0	736
49	34,4	60,6	3,2	1,8	818
50	34,4	50,4	0,1	15,0	718
51	34,9	42,0	23,1	0	324
52	35,7	64,0	0,3	0	619

Tab. 37, Fortsetzung

Nr.	$D_{P}^{R E S}$	$D_{P}^{S E R}$	$D_{R}^{R E R}$	$D_{R}^{S E S}$	Kol.
53	37,7	41,2	8,7	12,4	403
54	38,8	58,6	2,0	0,6	819
55	39,5	60,5	0	0,1	1181
56	39,8	46,7	0	13,5	561
57	42,4	43,7	4,0	10,0	556
58	43,0	21,8	33,6	1,6	1180
59	43,9	35,9	15,5	4,6	626
60	44,3	38,8	0,1	16,7	819
61	45,8	53,1	0	1,1	915
62	49,0	50,7	0	0,3	881
63	49,1	50,9	0	0	805
64	49,5	50,5	0	0	899
65	50,8	8,0	39,5	1,7	813
66	52,0	44,9	0	3,1	935
67	52,6	1,1	0,2	46,1	1265
68	53,6	21,7	0,2	24,5	1052
69	60,8	11,0	1,6	26,6	1048
70	69,9	15,7	0,6	13,8	479
71	71,1	0,4	0	28,4	893
72	72,4	2,7	9,3	15,6	474
73	73,9	0,8	5,3	19,9	361
74	79,5	0	0	20,5	899
75	80,3	0,1	0	19,6	1174
76	83,5	0,7	15,8	0	571
77	84,3	0	15,4	0,2	466
78	84,7	0	0	15,3	570
79	90,1	0	9,9	0	416
80	92,6	0	0	7,4	404
81	94,4	0	0	5,6	303
82	96,2	0,1	0,1	3,6	1390
83	96,5	0	0	3,5	769
84	96,8	0	3,2	0	441
85	98,3	0	0,2	1,5	484
86	98,8	0	0	1,2	823
87	98,9	0	0	1,1	854
88	99,2	0	0	0,8	852
89	99,5	0	0	0,5	647
90	99,7	0	0	0,3	331
91-102	100	0	0	0	ca.500
Durchsch.	44,0	41,1	4,2	10,7	
Standard- kreuzung	50,9	38,2	5,3	5,6	1759

Tab. 37, Fortsetz. Nag 5

Nr.	D ^R E ^S P	D ^S E ^R P	D ^R E ^R R	D ^S E ^S R	Kol.
1	0	0	0	100	1134
2-4	0	100	0	0	ca.800
5	0	99,9	0	0,1	899
6	0	97,8	0	2,2	671
7	0	94,9	5,1	0	547
8	0	93,8	0,1	6,1	1170
9	0	88,2	11,8	0	569
10	0	85,1	0	14,9	1069
11	0	83,4	1,0	15,6	517
12	0	79,0	0	21,0	482
13	0	74,2	25,8	0	353
14	0	55,8	44,2	0	344
15/16	0,1	99,9	0	0	ca.1500
17	0,1	85,6	0,4	13,9	830
18	0,2	81,7	0,4	17,7	911
19	0,2	72,7	0,3	26,8	675
20	1,3	69,9	0	28,8	1107
21	2,9	97,0	0	0,1	1613
22	3,4	70,1	7,6	18,9	1001
23	4,8	87,4	0	7,8	703
24	8,7	5,2	2,3	83,8	654
25	17,3	68,9	12,2	1,6	567
26	17,4	82,4	0	0,2	552
27	21,5	50,0	13,8	14,7	558
28	22,3	74,0	0,2	3,5	820
29	22,8	58,8	4,6	13,8	571
30	23,5	69,0	1,0	6,5	553
31	24,6	44,5	3,5	27,4	659
32	25,4	60,9	0	13,7	473
33	25,5	64,5	4,4	5,6	585
34	25,5	50,5	2,8	21,2	788
35	26,2	73,8	0	0	725
36	28,1	45,5	10,1	16,3	989
37	32,7	64,0	0	3,3	947
38	34,5	40,6	19,1	5,8	1272
39	35,8	64,0	0	0,2	1467
40	37,5	0,6	0	61,9	779
41	39,9	3,3	0	56,8	366
42	40,2	26,0	0	33,8	835
43	40,4	37,8	2,8	19,0	778
44	41,0	37,5	0,8	20,7	960
45	42,2	33,1	7,9	16,8	820
46	42,6	20,0	0	37,4	945
47	43,1	12,4	5,3	39,2	1478
48	45,6	46,9	4,2	3,3	340
49	46,2	53,8	0	0	1001
50	47,1	10,7	1,9	40,3	1582
51	47,3	25,1	14,6	13,0	1183
52	50,9	42,2	3,8	3,1	1400
53	51,7	0,2	0	48,1	1425

Tab. 37, Fortsetzung

Nr.	D ^R E ^S P	D ^S E ^R P	D ^R E ^R R	D ^S E ^S R	Kol.
54	54,3	0	0,4	45,3	536
55	55,8	0,5	0	43,7	570
56	58,3	29,1	12,4	0,2	846
57	58,6	1,7	0	39,7	522
58	59,3	13,1	12,4	15,2	720
59	60,0	0,4	0	39,6	844
60	60,4	11,9	4,0	23,7	604
61	63,0	14,9	14,0	8,1	1107
62	63,4	27,5	0,4	8,7	1346
63	64,1	31,8	3,1	1,0	1028
64	68,0	9,1	4,7	18,2	1115
65	69,2	1,4	3,0	26,4	1465
66	70,6	0,3	0,3	28,8	729
67	72,7	0	0	27,3	1326
68	73,7	0,2	0	26,1	962
69	74,2	0	25,6	0,2	441
70	75,8	0	0	24,2	839
71	78,4	4,4	2,2	15,0	662
72	82,2	2,2	0,5	15,1	697
73	85,8	0,3	9,6	4,3	1198
74	89,9	0,1	0	10,0	1197
75	90,9	0,6	3,0	5,5	1283
76	97,2	0	0,3	2,5	745
77	97,9	0,5	1,6	0	1118
78	98,0	0,2	0	1,8	587
79	98,1	0	0	1,9	850
80	98,4	0	0	1,6	1209
81	98,5	0	0	1,5	599
82	98,8	0	0,6	0,6	1106
83	99,1	0	0	0,9	1707
84	99,4	0,2	0,1	0,3	1417
85	99,5	0,3	0	0,2	907
86	99,8	0,1	0	0,1	1304
87/88	99,9	0,1	0	0	ca. 1000
89	99,9	0	0	0,1	1162
90-102	100	0	0	0	ca. 1000
Durchsch.	51,3	32,7	3,0	13,0	
Standard- kreuzung	44,8	35,1	4,9	15,2	1414

Uniparentale Vererbung (rein sensible Zellen) wurde auch durch direktes Plattieren auf Antibiotikamedien geprüft.

Tab. 38

Kälte-Kontrollversuch, Tag 0

Nr.	D ^R E ^S P	D ^S E ^R P	D ^R E ^R R	D ^S E ^S R	Kol.
1/2	0	100	0	0	ca.500
3	12,4	49,5	15,8	22,3	539
4	16,3	61,6	9,0	13,1	768
5	21,5	75,8	0	2,7	636
6	21,8	64,4	0,9	12,9	579
7	22,1	57,4	3,9	16,6	746
8	22,1	57,3	13,0	7,6	569
9	22,3	70,3	7,4	0	391
10	22,8	76,3	0,9	0	737
11	23,5	75,0	1,5	0	523
12	24,4	75,6	0	0	677
13	24,4	68,4	0	7,1	589
14	24,6	75,4	0	0	525
15	24,8	75,2	0	0	387
16	25,4	74,2	0	0,5	213
17	25,5	74,5	0	0	654
18	25,6	74,2	0	0,1	733
19	30,0	68,8	0	1,2	433
20	30,0	58,7	0	11,3	293
21	31,1	65,2	0	3,7	882
22	31,2	11,6	2,0	55,2	542
23	32,1	67,9	0	0	302
24	32,9	65,5	0	1,6	681
25	33,4	53,9	12,7	0	631
26	33,4	38,4	0	28,2	688
27	34,1	30,1	0	35,7	375
28	34,5	65,5	0	0	258
29	34,5	64,5	0	1,0	296
30	34,7	65,3	0	0	300
31	34,8	65,2	0	0	368
32	36,0	63,8	0	0,1	752
33	36,5	63,5	0	0	293
34	36,8	54,9	0	8,4	370
35	37,0	63,0	0	0	1182
36	37,1	62,9	0	0	485
37	37,1	62,1	0	0,9	464
38	37,3	62,7	0	0	279
39	37,7	62,2	0	0,2	621
40	38,1	61,6	0	0,3	333
41	38,4	58,3	1,1	2,2	822
42	38,5	53,2	0	8,3	483
43	38,9	61,1	0	0	367
44	40,7	57,7	0	1,6	728
45	40,8	40,0	0,8	18,4	250
46	40,9	59,1	0	0	658
47	41,1	52,2	0,1	6,6	1156
48	41,4	57,7	0	0,9	636

Tab. 38 , Fortsetzung

Nr.	D_{EP}^{RES}	D_{EP}^{SER}	D_{ER}^{RER}	D_{ER}^{SES}	Kol.
49	41,8	58,2	0	0	1434
50	42,3	57,7	0	0	404
51	42,8	56,9	0	0,3	642
52	43,7	56,3	0	0	533
53	43,7	43,6	0	12,7	615
54	43,9	56,1	0	0	638
55	44,0	56,0	0	0	525
56	44,8	53,8	0,4	1,0	810
57	44,8	38,5	2,9	13,7	475
58	44,9	55,1	0	0	798
59	44,9	53,8	0,3	1,1	759
60	45,3	51,0	0	3,7	506
61	46,0	54,0	0	0	346
62	46,1	47,1	5,6	1,1	698
63	48,2	51,5	0	0,2	875
64	48,9	46,5	0	4,6	648
65	49,5	30,4	0	20,1	537
66	49,8	40,9	5,8	3,5	428
67	49,9	50,1	0	0	699
68	51,6	45,2	0	3,2	502
69	52,4	47,6	0	0	63
70	52,6	47,2	0	0,2	540
71	53,5	46,5	0	0	510
72	53,5	40,0	2,7	3,8	555
73	53,7	46,3	0	0	588
74	53,7	45,9	0	0,4	490
75	56,1	43,9	0	0	542
76	56,6	43,2	0,2	0	562
77	56,7	42,4	0,2	0,7	1028
78	56,8	43,2	0	0	692
79	57,0	33,7	6,7	2,6	623
80	57,3	40,8	0	1,9	623
81	57,3	17,4	9,3	16,0	386
82	57,9	28,9	3,2	10,0	807
83	58,3	41,7	0	0	391
84	58,9	40,9	0	0,3	367
85	59,4	22,1	18,2	0,3	707
86	60,3	39,7	0	0	315
87	61,6	37,9	0	0,5	599
88	61,5	38,5	0	0	405
89	62,4	37,6	0	0	213
90	62,6	23,8	0	13,7	454
91	62,6	16,7	16,3	4,4	497
92	63,6	31,8	4,2	0,4	236
93	65,6	33,7	0	0,7	579
94	65,6	6,9	4,1	23,3	579
95	69,4	29,4	0	1,3	780
96	70,3	22,8	0	6,9	135
97	73,6	10,9	5,9	9,6	605
98	76,1	23,9	0	0	426
99	81,0	18,7	0	0,3	678

Tab. 38, Fortsetzung

Nr.	$D_{P}^{R,S}$	$D_{P}^{S,R}$	$D_{R}^{R,R}$	$D_{R}^{S,S}$	Kol.
100	85,2	0	0	14,8	440
101	97,5	2,2	0	0,3	324
102	100	0	0	0	244
Durchsch.	44,4	49,7	1,5	4,4	
Standard- kreuzung	45,7	43,4	4,0	6,9	477

Tag 5

Durchsch.	39,6	51,4	2,0	7,0	
Standard- kreuzung	46,0	44,5	3,5	6,0	1239

Uniparentale Vererbung (rein sensible Zellen) wurde auch durch direktes Plattieren auf Antibiotikamedien geprüft.

Tab. 38, Fortsetzung

Kälte-Kontrollversuch, Tag 5

Nr.	D ^R E ^S _P	D ^S E ^R _P	D ^R E ^R _R	D ^S E ^S _R	Kol.
1-6	0	100	0	0	ca.500
7	0	99,9	0,1	0	676
8	0	99,5	0,5	0	375
9	0	99,5	0	0,5	401
10	0	98,6	0,7	0,7	275
11	1,3	51,0	0,5	47,2	396
12	2,9	76,9	5,9	14,3	307
13	3,8	67,7	3,1	25,4	583
14	4,8	70,2	20,8	4,2	168
15	6,3	70,8	17,5	5,4	223
16	6,8	78,0	0	15,2	500
17	7,2	37,0	0	55,8	516
18	9,2	65,7	25,1	0	239
19	10,0	50,2	0	39,8	410
20	13,5	84,5	0	2,0	200
21	16,3	64,4	1,2	18,1	526
22	18,7	61,7	10,5	9,1	219
23	22,4	75,4	0	2,2	272
24	23,1	72,7	0	4,2	355
25	25,1	44,6	0	30,3	498
26	25,2	63,1	0	11,7	795
27	27,3	64,9	2,5	5,3	319
28	28,1	46,8	5,7	19,4	775
29	31,8	66,4	1,3	0,5	595
30	31,9	63,9	4,2	0	216
31	32,4	67,0	0,6	0	306
32	33,6	63,8	1,5	1,1	456
33	35,3	64,7	0	0	493
34	35,4	45,4	0,4	18,8	260
35	35,5	45,8	6,6	12,1	166
36	35,6	58,0	6,2	0,2	593
37	35,6	58,0	0	6,4	455
38	35,9	37,0	0	27,1	457
39	37,3	53,6	0	9,1	306
40	37,5	45,2	0	17,3	336
41	37,7	62,3	0	0	512
42	38,2	61,6	0	0,2	558
43	38,5	61,5	0	0	545
44	38,6	46,9	0	14,5	523
45	38,8	61,2	0	0	363
46	39,4	60,6	0	0	530
47	39,4	53,8	6,7	0,1	691
48	39,8	60,2	0	0	497
49	39,9	41,8	10,7	7,6	526
50	40,4	59,6	0	0	685
51	40,5	54,2	0	5,3	494
52	40,6	17,6	0	41,8	624

Tab. 38, Fortsetzung

Nr.	$D_{P}^{R,S}$	$D_{P}^{S,E,R}$	$D_{R}^{R,E,R}$	$D_{R}^{S,E,S}$	Kol.
53	41,0	59,0	0	0	510
54	42,1	36,9	1,7	19,3	409
55	42,2	57,8	0	0	1031
56	42,3	57,7	0	0	409
57	43,4	30,6	0	26,0	723
58	43,7	54,8	0	1,5	341
59	44,0	55,0	1,0	0	389
60	44,5	52,4	2,7	0,4	488
61	46,6	53,4	0	0	528
62	46,6	49,1	4,3	0	328
63	46,8	40,5	0	12,7	434
64/65	47,0	53,0	0	0	370/247
66	47,3	52,6	0,1	0	1283
67	47,5	46,7	0	5,8	552
68	47,7	45,9	0	6,4	235
69	47,9	52,1	0	0	526
70	48,9	48,1	2,8	0,2	495
71	49,0	24,9	6,2	19,9	514
72	49,7	50,3	0	0	296
73	50,3	49,7	0	0	332
74	50,6	49,4	0	0	174
75	50,6	43,6	1,2	4,6	498
76	51,0	49,0	0	0	569
77	51,0	40,0	0	9,0	312
78	51,4	48,0	0	0,6	808
79	51,6	29,9	10,8	7,7	639
80	51,8	47,4	0	0,8	631
81	52,4	47,6	0	0	637
82	53,4	15,8	1,9	28,9	380
83	54,6	44,5	0	0,9	432
84	57,6	42,1	0	0,3	342
85	58,1	41,9	0	0	453
86	58,5	39,3	2,1	0,1	819
87	58,7	40,8	0	0,5	622
88	58,8	35,5	5,7	0	279
89	59,3	37,0	0	3,7	243
90	63,7	16,8	0	19,5	358
91	63,8	34,1	0	2,1	932
92	65,8	31,7	2,5	0	435
93	70,9	28,7	0	0,4	429
94	74,3	2,2	0,7	22,8	440
95	75,6	5,1	9,5	9,8	275
96	76,9	0	15,4	7,7	455
97	83,6	0	0,2	16,2	450
98	93,4	0	0	6,6	395
99	94,9	0	1,1	4,0	455
100	99,7	0	0	0,3	394
101/102	100	0	0	0	ca.500

Tab. 39

diu^r ery^r-100h⁻lys⁻ x mei 1-140leu⁻

Zygotenanalysen mit Aushungerung, Tag 0

Nr.	D ^R E ^S _R	D ^S E ^R _R	D ^R E ^R _P	D ^S E ^S _P	Kol.
1-8	0	0	0	100	ca.500
9	1,3	1,3	0	97,4	308
10	15,8	1,4	0	82,8	209
11	0	61,1	0	38,9	288
12	67,6	12,5	0	19,9	216
13	4,5	15,0	0,7	79,8	441
14	0	54,9	1,3	43,8	162
15	24,3	4,8	3,9	67,0	230
16	0	43,2	4,5	52,3	440
17	0	23,4	4,7	71,9	320
18	0,6	21,5	5,0	72,9	362
19	1,0	3,1	6,1	89,8	293
20	0,4	0	6,6	93,0	470
21	1,3	16,8	6,7	75,2	315
22	1,2	0	9,0	89,8	335
23	0	0	9,2	90,8	240
24	20,3	6,3	9,2	64,2	271
25	0	0,2	9,9	89,9	417
26	0	0,6	10,3	89,1	625
27	15,1	28,0	10,7	46,2	364
28	23,5	0	10,8	65,7	371
29	0	0	10,9	89,1	156
30	12,2	7,8	12,2	67,8	449
31	0	1,3	12,5	86,2	311
32	0	16,5	12,7	70,8	411
33	16,7	0,6	13,4	69,3	479
34	6,4	2,5	15,9	75,2	157
35	7,2	2,0	16,0	74,8	305
36	0	0	16,5	83,5	376
37	2,3	2,6	16,5	78,6	345
38	1,1	1,7	16,6	80,6	536
39	2,0	1,7	17,1	79,2	298
40	5,2	2,5	17,2	75,1	483
41	2,0	0,7	17,3	80,0	295
42	0	0,3	17,4	82,3	413
43	0,9	14,1	17,4	67,6	213
44	11,7	45,6	18,0	24,7	377
45	2,1	15,2	18,1	64,6	237
46	0,8	20,0	18,7	60,5	481
47	0	0	18,8	81,2	330
48	58,9	4,4	19,1	17,6	68
49	1,9	0,5	19,2	78,4	208
50	0	0	19,3	80,7	114
51	1,9	0	19,7	78,4	467
52	0	0	19,8	80,2	227
53	13,7	8,8	19,9	57,6	422

Tab.39 , Fortsetzung

Nr.	D ^R E ^S R	D ^S E ^R R	D ^R E ^R P	D ^S E ^S P	Kol.
54	0	8,1	20,3	71,6	246
55	10,5	8,3	20,6	60,6	277
56	0	0	20,9	79,1	268
57	0	3,4	20,9	75,7	378
58	0,6	0	21,1	78,3	336
59	0	0,2	21,7	78,1	589
60	0,4	0	22,5	77,1	244
61	2,9	1,7	22,6	72,8	349
62	7,6	2,9	22,9	66,6	315
63	7,2	7,2	23,2	62,4	290
64	0	2,0	23,8	74,2	101
65	0,3	2,7	24,2	72,8	607
66	4,9	27,8	25,2	42,1	345
67	1,0	6,0	25,3	67,7	384
68	10,1	8,9	25,5	55,5	384
69	4,0	6,6	25,7	63,7	474
70	0	0,8	25,8	73,4	546
71	8,3	6,5	25,9	59,3	432
72	11,1	18,4	26,8	43,7	190
73	1,1	1,1	27,7	70,1	354
74	0,3	0	27,9	71,8	341
75	0	0	28,0	72,0	472
76	3,6	8,8	28,8	58,8	420
77	0,7	14,7	28,9	55,7	305
78	1,8	21,8	29,8	46,6	238
79	0,3	0,9	29,9	68,9	331
80	4,1	0	30,0	65,9	290
81	0	0	31,1	68,9	482
82	1,9	1,9	31,7	64,5	259
83	0	0	32,1	67,9	162
84	17,8	1,3	32,3	48,6	527
85	0	0,5	32,4	67,1	401
86	0,8	2,4	32,6	64,2	372
87	0	1,7	36,4	61,9	346
88	0	0	36,8	63,2	253
89	0	1,6	38,2	60,2	186
90	0	0,2	40,4	59,4	436
91	0	9,4	41,5	49,1	544
92	0	22,9	43,1	34,0	297
93	0,9	2,0	46,4	50,7	457
94	1,5	6,5	52,3	39,7	413
95	2,2	0	54,2	43,6	227
96	0	0	80,0	20,0	360
97	0	2,9	89,7	7,4	272
98	0	0	99,5	0,5	406
99/100	0	0	100	0	ca.300
Durchsch.	4,3	6,6	22,5	66,6	

Tab. 39, Fortsetzung

Tag 2

Nr.	D ^R E ^S _R	D ^S E ^R _R	D ^R E ^R _P	D ^S E ^S _P	Kol.
1-35	0	0	0	100	ca. 300
36	0,4	0	0	99,6	241
37	1,2	0	0	98,8	168
38	1,4	0	0	98,6	365
39	0	2,3	0	97,7	217
40	2,8	0	0	97,2	321
41	0	3,5	0	96,5	285
42	5,2	0	0	94,8	446
43	2,4	3,3	0	94,3	211
44	0	6,0	0	94,0	215
45	0	6,5	0	93,5	291
46	8,7	0	0	91,3	207
47	9,7	2,9	0	87,4	206
48	15,2	2,5	0	82,3	204
49	0	28,9	0	71,1	342
50	35,0	0	0	65,0	377
51	35,2	0	0	64,8	383
52	36,2	0	0	63,8	392
53	0	58,3	0	41,7	444
54	62,9	0	0	37,1	345
55	0	82,2	0	17,8	376
56	0	100	0	0	410
57	0	0,7	0,2	99,1	590
58	1,2	0,3	0,3	98,2	324
59	0,3	41,7	0,3	57,7	355
60	0	83,7	0,4	15,9	239
61	0	3,7	1,4	94,9	949
62	17,9	0,3	3,6	78,2	307
63	52,9	0	5,3	41,8	206
64	81,1	4,4	6,3	8,2	270
65	60,7	6,7	7,3	25,3	178
66	0	4,3	8,9	86,8	282
67	22,1	19,5	9,5	48,9	307
68	10,5	4,0	10,3	75,2	351
69	6,9	6,9	10,7	75,5	318
70	0,5	11,9	11,6	76,0	379
71	4,6	42,9	12,6	39,9	303
72	0	0,7	14,5	84,8	449
73	19,8	9,5	15,6	55,1	243
74	42,2	8,2	17,9	31,7	268
75	20,8	4,2	18,8	56,2	240
76	0,8	20,2	20,2	58,8	371
77	0,4	0	21,4	78,2	220
78	45,9	11,8	22,1	20,2	331
79	8,5	1,0	26,4	64,1	401
80	1,3	0	26,5	72,2	155

Tab. 39, Fortsetzung

Nr.	$D_{R}^{R,S}$	$D_{R}^{S,E}$	$D_{P}^{R,E}$	$D_{P}^{S,E}$	Kol.
81	0	30,9	28,4	40,7	324
82	2,3	15,8	29,2	52,7	260
83	44,9	0	30,1	25,0	292
84	38,7	21,9	31,8	7,6	343
85	0	7,0	33,8	59,2	470
86	26,8	0,3	37,9	35,0	351
87	0	0	41,9	58,1	296
88	23,6	12,0	48,8	15,6	365
89	0	3,8	50,0	46,2	312
90	12,4	6,6	51,0	30,0	363
91	39,3	0,9	59,8	0	214
92	36,4	1,0	61,3	1,3	302
93	0	31,6	68,4	0	177
94	27,6	0,8	71,6	0	254
95	9,5	11,6	74,8	4,1	464
96	15,1	1,4	83,5	0	291
97	6,0	0,7	93,3	0	535
98	0	1,4	96,7	1,9	216
99	0	2,4	97,6	0	423
100/101	0	0	100	0	ca. 300
Durchsch.	8,9	7,2	15,5	68,4	

Tab. 39, Fortsetzung

Tag 5

Nr.	D ^R E ^S R	D ^S E ^R R	D ^R E ^R P	D ^S E ^S P	Kol.
1-49	0	0	0	100	ca.300
50-52	100	0	0	0	ca.300
53-55	0	100	0	0	ca.300
56	1,1	0	0	98,9	189
57	0	2,0	0	98,0	196
58	0	12,3	0	87,7	342
59	76,4	0	0	23,6	406
60	99,5	0	0	0,5	217
61	0	92,0	0,4	7,6	264
62	0	98,0	2,0	0	451
63	30,1	2,1	4,9	62,9	286
64	0	0	6,3	93,7	412
65	0	0	10,9	89,1	275
66	42,9	11,5	13,4	32,2	410
67	0	0	16,9	83,1	284
68	4,4	4,1	17,0	74,5	342
69	8,3	0,4	19,6	71,7	240
70	63,4	4,1	32,5	0	194
71	0	0	52,1	47,9	257
72	33,2	4,3	60,8	1,7	232
73	0	0	95,3 (4,7) *)	0	384
74	0	3,6	96,4	0	275
75	0	1,7	98,3	0	242
76	0	1,1	98,9	0	356
77-100	0	0	100	0	ca.300
Durchsch.	6,6	5,4	30,3	57,7	

*) Werte in Klammern: Kolonien wachsen nicht auf Doppel-Antibiotikamedien

Tab. 40

Mittelwerte und Varianzen in Zygotenanalysen
mit Aushungerung aus der Kreuzung
 $diu^R-301h^- \times ery^R-114\ mei1$

Tage auf SPA	Temp. °C	$\bar{x}$		Varianz	
		alle Zygoten	BP	alle Zygoten	BP
D^R - Transmission					
0	23	42,5	43,1	454	337
1	23	48,0	51,1	860	554
2	23	55,6	54,2	980	754
3	23	48,2	49,5	1455	996
5	23	54,3	52,4	1372	1094
0	6	45,9	46,3	324	261
5	6	41,6	43,9	582	413
E^R - Transmission					
0	23	49,3	49,8	503	400
1	23	46,3	44,9	1013	703
2	23	39,7	45,1	937	684
3	23	45,3	52,3	1304	803
5	23	35,7	40,3	1426	1188
0	6	51,2	51,3	361	273
5	6	53,4	51,7	626	384
E^S - Transmission					
0	23	50,6	50,2	503	400
1	23	53,7	55,1	1013	703
2	23	60,3	54,9	937	684
3	23	54,7	47,6	1298	791
5	23	64,3	60,2	1426	1194
0	6	48,8	48,7	361	273
5	6	46,6	48,3	626	384

Tab. 40, Fortsetzung

Tage auf SPA	Temp. °C	$\bar{x}$		Varianz	
		alle Zygoten	BP	alle Zygoten	BP
Parentaltyp $D^R E^S$					
0	23	39,1	39,8	464	338
1	23	44,3	47,8	838	560
2	23	51,6	51,4	998	695
3	23	44,0	47,0	1427	973
5	23	51,3	52,4	1433	1040
Parentaltyp $D^S E^R$					
0	6	44,4	44,7	317	254
5	6	39,6	42,7	589	401
Parentaltyp $D^S E^R$					
0	23	45,9	46,3	500	443
1	23	42,6	42,0	1009	646
2	23	35,7	42,3	937	683
3	23	41,1	51,3	1291	846
5	23	32,7	42,7	1335	1202
0	6	49,7	49,7	381	294
5	6	51,4	52,2	617	336
Rekombinanten $D^R E^R$					
0	23	3,5	6,2	53	78
1	23	3,7	7,6	48	69
2	23	4,0	7,6	78	123
3	23	4,2	9,2	97	170
5	23	3,0	6,5	44	72
0	6	1,5	5,3	14	28
5	6	2,0	5,1	20	35

Tab. 40 , Fortsetzung

Tage auf SPA	Temp. °C	$\bar{x}$		Varianz	
		alle Zygoten	BP	alle Zygoten	BP
Rekombinanten $D^S E^S$					
0	23	11,6	13,9	208	217
1	23	9,4	12,8	164	179
2	23	8,7	11,3	141	153
3	23	10,7	15,6	297	357
5	23	13,0	16,5	340	292
0	6	4,4	7,2	73	100
5	6	7,0	11,1	126	156
Rekombinanten gesamt					
0	23	15,1	17,5	271	272
1	23	13,2	17,0	187	176
2	23	12,7	15,2	236	245
3	23	14,9	19,0	353	373
5	23	16,0	19,4	354	285
0	6	5,9	9,0	99	123
5	6	9,0	12,3	144	157

Tab. 41

Mittelwerte und Varianzen
in Zygotenanalysen mit Aushungerung
aus der Kreuzung
 $\text{diu}^r \text{ery}^r - 100\text{h}^- \text{lys}^- \times \text{mei1-140 leu}^-$

Tage auf SPA	$\bar{x}$		Varianz	
	alle Zygoten	BP	alle Zygoten	BP
D^R - Transmission				
0	26,8	27,5	455	316
2	24,3	40,3	1115	1096
5	36,9	49,4	2173	1606
E^R - Transmission				
0	29,1	30,1	463	325
2	22,6	35,0	1002	788
5	35,7	28,3	2138	712
E^S - Transmission				
0	70,8	69,8	463	325
2	77,4	65,0	1002	788
5	64,2	71,0	2137	714
Parentaltyp $D^R E^R$				
0	22,5	23,9	425	281
2	15,5	31,7	732	815
5	30,3	35,4	1977	1341
Parentaltyp $D^S E^S$				
0	66,6	65,1	511	366
2	68,4	59,8	1340	940
5	57,7	58,2	2283	1320

Tab. 41, Fortsetzung

Tage auf SPA	$\bar{x}$		Varianz	
	alle Zygoten	BP	alle Zygoten	BP
Rekombinanten $D_E^{R,S}$				
0	4,3	7,7	102	157
2	8,9	20,4	280	410
5	6,6	39,9	498	1169
Rekombinanten $D_E^{S,R}$				
0	6,6	9,6	134	167
2	7,2	13,2	309	379
5	5,4	18,2	460	1175
Rekombinanten gesamt				
0	10,8	14,1	251	280
2	16,1	24,7	543	539
5	12,0	37,3	907	1456

Tab. 42

$\text{diu}^{\text{r}}\text{-301h}^{\text{-}}\text{ade}^{\text{-}}/\text{ery}^{\text{r}}\text{-128h}^{\text{-}}\text{lys}^{\text{-}}$

Fusionsprodukte

1. Ansatz

Nr.	D^{RES} P	D^{SER} P	D^{RER} R	D^{SES} R	Kol.
1-14	0	100	0	0	ca.500
15	0	0	100	0	621
16-18	0	0	0	100	ca.500
19-35	100	0	0	0	ca.500
Durchsch.	48,6	40,0	2,8	8,6	

2. Ansatz

Nr.	D^{RES} P	D^{SER} P	D^{RER} R	D^{SES} R	Kol.
1-22	0	100	0	0	ca.500
23	0	96,0	0	4,0	772
24	0	91,1	0	8,9	774
25	0	89,6	0	10,4	653
26	0	82,2	0	17,8	664
27	0	81,1	0,1	18,8	768
28	0	72,0	0	28,0	168
29	0	68,9	0	31,1	721
30	0	67,9	22,5	9,6	563
31	0	42,6	0	57,4	610
32	0	29,6	70,4	0	605
33	0	0,1	0	99,9	828
34/38	0	0	0	100	ca.500
39	0,1	0,2	99,7	0	1024
40	0,3	72,3	27,1	0,3	311
41	4,0	0	96,0	0	680
42	15,6	4,4	0	80,0	546
43	21,7	18,5	47,6	12,2	498
44	29,2	0	70,8	0	804
45	35,8	9,7	2,3	52,2	226
46	36,6	9,5	5,2	48,7	423
47	47,6	0	3,4	49,0	206
48	49,3	0	50,7	0	467
49	61,1	0	0	38,9	615
50	68,2	0	0	31,8	280
51	80,5	0	0	19,5	461

Tab. 42 , Fortsetzung

Nr.	D ^R E ^S P	D ^S E ^R P	D ^R E ^R R	D ^S E ^S R	Kol.
52	83,1	0	0	16,9	391
53	92,4	0	0	7,6	776
54	94,6	0	3,9	1,5	517
55	96,4	0	0	3,6	445
56	99,7	0	0	0,3	387
57-103	100	0	0	0	ca.500
Durchsch.	54,5	29,5	4,9	11,1	
direkt gestempelte Fusions- klone	42,9	38,5	12,6	6,0	301

Uniparental sensible Klone wurden auch durch direktes Plattieren auf Antibiotikamedien ermittelt.

Tab. 43

Segregation in Zygoten unter wachsenden Bedingungen

Kreuzung: $diu^r-301h^-ade^- \times ery^r-114\ mei\ lys^-$

Zeit in EMM flüssig: 0 Stunden

Titer: $1,1 \times 10^2$

Nr.	$D^R E^S$ P	$D^S E^R$ P	$D^R E^R$ R	$D^S E^S$ R	Kol.
1	0	100	0	0	642
2	1,6	97,6	0	0,8	499
3	6,9	92,9	0,2	0	576
4	7,0	78,9	13,0	1,1	660
5	7,4	91,8	0,8	0	367
6	10,0	89,5	0,5	0	411
7	12,0	88,0	0	0	410
8	12,2	86,9	0,9	0	564
9	14,2	85,8	0	0	541
10	14,4	85,6	0	0	291
11	15,3	1,5	9,3	73,9	399
12	15,4	84,6	0	0	508
13	15,6	83,3	1,0	0,1	616
14	17,1	82,7	0,2	0	421
15	18,0	82,0	0	0	440
16	18,7	70,0	0	11,3	257
17	19,2	80,6	0,2	0	567
18	19,3	79,9	0,8	0	269
19	19,4	80,6	0	0	660
20	20,0	78,2	1,8	0	385
21	21,3	78,7	0	0	361
22	23,3	52,9	22,2	1,6	510
23	25,2	68,2	0,2	6,4	763
24	25,5	73,2	1,3	0	395
25	25,6	73,4	1,0	0	203
26	26,2	73,4	0	0,4	214
27	27,0	68,4	0	4,6	152
28	27,3	72,7	0	0	499
29	27,5	71,8	0,7	0	397
30/31	27,8	72,2	0	0	ca. 500
32	28,3	60,6	9,4	1,7	576
33	29,1	65,9	0	5,0	777
34	29,9	70,1	0	0	518
35	29,9	66,2	3,2	0,7	308
36	30,5	69,5	0	0	469
37	30,9	68,0	1,1	0	359

Tab. 43 , Fortsetzung

Nr.	$D_{P}^{R,E,S}$	$D_{P}^{S,E,R}$	$D_{R}^{R,E,R}$	$D_{R}^{S,E,S}$	Kol.
38	32,4	58,4	9,2	0	389
39	32,5	67,0	0	0,5	203
40	32,8	64,8	2,4	0	503
41	34,5	64,8	0,5	0,2	423
42	34,6	63,0	2,4	0	411
43	37,4	56,5	5,8	0,3	389
44	37,6	62,4	0	0	487
45	39,6	1,9	0	58,5	424
46	40,2	6,7	1,6	51,5	553
47	40,5	59,1	0,4	0	602
48	40,8	46,8	8,3	4,1	419
49	45,5	23,3	26,9	4,3	584
50	50,9	49,1	0	0	334
51	100	0	0	0	321
Durchschnitt					
	26,0	67,1	2,5	4,4	

Zeit in EMM flüssig: 5 Stunden = ca.0,3 Generationen
Titer: $1,4 \times 10^2$

Nr.	$D_{P}^{R,E,S}$	$D_{P}^{S,E,R}$	$D_{R}^{R,E,R}$	$D_{R}^{S,E,S}$	Kol.
1-13	0	100	0	0	ca.500
14	0	99,8	0	0,2	415
15	0	98,6	1,4	0	350
16	0	97,2	2,8	0	324
17	0	96,0	0	4,0	276
18	0	84,6	0	15,4	460
19	0	4,1	95,9	0	322
20	7,7	73,7	0	18,6	300
21	13,8	85,7	0,5	0	391
22	15,4	56,2	1,1	27,3	772
23	15,5	70,3	1,1	13,1	283
24	18,1	79,7	1,9	0,3	581
25	20,9	77,4	1,0	0,7	301
26	23,0	75,3	1,7	0	291

Tab. 43 , Fortsetzung

Nr.	$D_{P}^{R,E,S}$	$D_{P}^{S,E,R}$	$D_{R}^{R,E,R}$	$D_{R}^{S,E,S}$	Kol.
27	32,2	66,4	1,4	0	342
28	44,4	1,7	12,8	41,1	297
29	47,3	50,3	0	2,4	366
30	55,0	22,6	5,6	16,8	645
31	97,3	0,5	0,2	2,0	439
32	98,0	0	0	2,0	350
33	98,8	0	0	1,2	253
34	99,2	0	0	0,8	487
35	99,7	0	0	0,3	366
36-51	100	0	0	0	ca.500
Durchschnitt	46,8	47,8	2,5	2,9	

Zeit in EMM flüssig: 10 Stunden = ca.2 Generationen
Titer: $4,9 \times 10^2$

Nr.	$D_{P}^{R,E,S}$	$D_{P}^{S,E,R}$	$D_{R}^{R,E,R}$	$D_{R}^{S,E,S}$	Kol.
1-13	0	100	0	0	ca.500
14	0	99,1	0,9	0	329
15	0	98,5	0	1,5	533
16	0	93,2	6,8	0	442
17	0	92,9	0	7,1	337
18	0	87,6	0,3	12,1	299
19	0	74,9	0	25,1	561
20	0	71,6	0	28,4	624
21	0	5,7	0	94,3	584
22	0	3,4	0	96,6	554
23	0	1,7	0	98,3	297
24	0,5	74,2	14,3	11,0	453
25	6,5	67,2	0	26,3	338
26	10,0	68,3	0,8	20,9	249
27	10,3	3,8	0	85,9	312
28	11,5	0	0	88,5	816
29	33,5	0,2	0	66,3	641
30	54,0	1,6	0,8	43,6	250

Tab.43 , Fortsetzung

Nr.	D ^R E ^S P	D ^S E ^R P	D ^R E ^R R	D ^S E ^S R	Kol.
31	59,6	1,6	31,2	7,6	607
32	66,2	0	0	33,8	438
33	69,9	30,1	0	0	418
34	70,9	4,0	2,3	22,8	575
35	71,7	0	0	28,3	463
36	74,7	4,5	8,3	12,5	1011
37	89,2	0,3	0	10,5	390
38	96,6	0	0	3,4	268
39	98,3	0	0	1,7	412
40	99,0	0	0	1,0	411
41	99,3	0	0	0,7	443
42	99,4	0	0	0,6	474
43	99,7	0	0	0,3	390
44-51	100	0	0	0	ca.500
Durchschnitt					
	39,6	42,8	1,3	16,3	

Zeit in EMM flüssig: 31 Stunden = ca.14 Generationen
Titer: $2,0 \times 10^6$

Nr.	D ^R E ^S P	D ^S E ^R P	D ^R E ^R R	D ^S E ^S R	Kol.
1-14	0	100	0	0	ca.500
15	0	99,9	0	0,1	789
16	0	99,6	0	0,4	453
17/18	0	98,8	0	1,2	ca.500
19/20	0	98,6	0	1,4	ca.500
21	0	98,4	0	1,6	502
22	0	98,1	0	1,9	313
23	0	97,8	0	2,2	401
24	0	96,7	0	3,3	395
25	0	95,6	0	4,4	451
26	0	95,4	0	4,6	452
27	0	95,3	0	4,7	361

Tab. 43 , Fortsetzung

Nr.	$D_{P}^{R_{ES}}$	$D_{P}^{S_{ER}}$	$D_{R}^{R_{ER}}$	$D_{R}^{S_{ES}}$	Kol.
28/29	0	86,5	0	13,5	ca.500
30	0	85,6	0	14,4	277
31	0	84,0	0	16,0	200
32	0	82,7	0	17,3	156
33	0	81,8	0	18,2	351
34	0	78,6	0	21,4	154
35	0	76,8	0	23,2	155
36	0	76,0	0	24,0	167
37	0	68,7	0	31,3	163
38	0	67,9	0	32,1	140
39	0	0	0	100	509
40	16,1	50,9	0	33,0	112
41	97,9	0	0	2,1	290
42/43	98,6	0	0	1,4	ca.500
44/45	99,3	0	0	0,7	ca.500
46	99,4	0	0	0,6	529
47	99,5	0	0	0,5	214
48/49	99,8	0	0	0,2	ca.500
50-52	100	0	0	0	ca.500
Durchschnitt	23,2	69,2	0	7,6	

Tab. 44a

Segregation in Zygoten

$\text{diu}^{\text{r}}\text{-301h}^{\text{-ade}} \times \text{ery}^{\text{r}}\text{-114 mei1 lys}^{\text{-}}$

$\text{D}^{\text{R}}\text{E}^{\text{R}}$ ns-Isolate: Kolonien vom nicht-selektiven Medium isoliert

1. Passage

Nr.	$\text{D}^{\text{R}}\text{E}^{\text{S}}$	$\text{D}^{\text{S}}\text{E}^{\text{R}}$	$\text{D}^{\text{R}}\text{E}^{\text{R}}$	$\text{D}^{\text{S}}\text{E}^{\text{S}}$	Kol.	Transmission	
						D^{R}	E^{R}
1	27,0	70,1	0,9	2,0	341	27,9	71,0
2	0	76,8	1,9	21,3	366	1,9	78,7
3	20,8	60,7	2,9	15,6	595	23,7	63,6
4*	25,5	66,2	2,9	5,4	447	28,4	69,1
5	45,7	42,9	3,1	8,3	396	48,8	46,0
6	26,6	60,1	3,4	9,9	233	30,0	63,5
7	30,1	33,3	4,2	32,4	429	34,3	37,5
8	9,8	54,0	4,2	32,0	796	14,0	58,2
9*	18,4	76,3	4,2	1,1	993	22,6	80,5
10	5,0	85,7	4,3	5,0	258	9,3	90,0
11	38,8	55,9	5,3	0	152	44,1	61,2
12	30,0	63,2	6,0	0,8	383	36,0	69,2
13*	0,2	90,0	7,4	2,4	448	7,6	97,4
14	15,7	42,8	7,8	33,7	166	23,5	50,6
15	4,6	87,5	7,8	0,1	735	12,4	95,3
16	1,2	91,0	7,8	0	332	9,0	98,8
17*	1,0	73,0	8,4	17,6	381	9,4	81,4
18	22,5	64,2	9,1	4,2	405	31,6	73,3
19	63,4	24,7	9,5	2,4	465	72,9	34,2
20	40,5	32,8	9,7	17,0	247	50,2	42,5
21*	33,7	28,4	9,9	28,0	493	43,6	38,3
22	8,1	77,4	10,4	4,1	443	18,5	73,8
23	9,3	57,9	10,8	22,0	259	20,1	68,7
24	9,7	62,3	11,5	16,5	547	21,2	73,8
25	8,7	69,3	11,5	10,5	218	20,2	80,8
26	31,0	50,5	11,7	6,8	368	42,7	62,2
27	84,8	0,2	14,8	0,2	412	99,6	15,0
28	28,7	52,7	17,7	0,9	435	46,4	70,4
29	44,7	36,5	18,8	0	266	63,5	55,3
30	57,0	21,5	20,0	1,5	135	77,0	41,5
31*	8,7	64,9	22,9	3,5	231	31,6	87,8
32	9,3	55,6	24,2	10,9	678	33,5	79,8
33*	42,8	21,4	24,3	11,5	374	67,1	45,7
34	35,4	28,8	30,1	5,7	469	65,5	58,9
35*	18,5	44,3	35,8	1,4	341	54,3	80,1
36*	9,7	39,7	50,6	0	257	60,3	90,3
Durchschnitt							
	24,1	54,5	12,1	9,3			

*) Isolate in der 2. Passage weiteruntersucht

Tab. 44a, Fortsetzung

2. Passage

Nr.	$D^R E^S$	$D^S E^R$	$D^R E^R$	$(D^R E^R)^S$	$D^S E^S$	Kol.	Transmission	
							D^R	E^R
4-1	0	4,1	85,9	10,0	0	340	95,9	100
4-2	0	0	95,7	4,3	0	276	100	100
4-3	0	0	96,3	3,7	0	81	100	100
4-4	0	0	97,8	2,2	0	319	100	100
4-5/6	0	0	100	0	0	ca. 300	100	100
9-1	52,8	0	47,2	0	0	108	100	47,2
9-2	0	100	0	0	0	188	0	100
9-3	0	44,7	54,4	0,9	0	430	55,3	100
9-4	0	14,5	84,2	1,3	0	152	85,5	100
9-5	0	0	98,4	1,6	0	307	100	100
9-6	0	0	98,5	1,5	0	455	100	100
9-7	0	0	98,6	1,4	0	512	100	100
9-8	0	0	99,1	0,9	0	320	100	100
9-9	0	0	99,2	0,8	0	394	100	100
9-10	0	0	99,7	0,3	0	588	100	100
9-11/12	0	0	100	0	0	ca. 300	100	100
13-1	0	100	0	0	0	325	0	100
13-2	0	0	98,1	1,9	0	54	100	100
13-3	0	0,5	99,5	0	0	197	99,5	100
13-4	0	0	99,6	0,4	0	252	100	100
13-5/11	0	0	100	0	0	ca. 300	100	100
17-1	0	0	0	100	0	367	100	100
17-2	0	41,6	58,4	0	0	250	58,4	100
17-3	0	0	94,6	5,4	0	256	100	100
17-4	0	2,3	97,7	0	0	174	97,7	100
17-5/10	0	0	100	0	0	ca. 300	100	100
21-1	1,6	22,3	29,0	45,2	1,9	937	75,8	96,5
21-2	0,3	34,5	34,5	27,7	3,0	595	62,5	96,7
21-3	2,0	1,7	67,2	29,1	0	405	98,3	98,0
21-4	9,3	0	86,6	4,1	0	194	100	90,7
21-5	0	10,2	87,2	2,6	0	39	89,8	100
21-6	0	0	98,0	2,0	0	294	100	100
21-7	1,3	0	98,7	0	0	400	100	98,7
21-8	0	0	99,5	0,5	0	186	100	100
21-9	0	0	99,7	0,3	0	399	100	100
21-10/12	0	0	100	0	0	ca. 300	100	100
31-1	45,6	0	5,3	49,1	0	357	100	54,4
31-2	0	0	88,6	11,4	0	235	100	100

Tab. 44a, Fortsetzung

Nr.	$D^{R_E S}$	$D^{S_E R}$	$D^{R_E R}$	$(D^{R_E R})^S$	$D^{S_E S}$	Kol.	Transmission	
							D^R	E^R
33-1	80,8	0	18,1	0	1,1	294	98,9	18,1
33-2	0	35,5	31,0	29,0	4,5	155	60,0	95,5
33-3	1,7	13,8	42,5	38,7	3,3	181	82,9	95,0
33-4	9,2	0	87,6	3,2	0	185	100	90,8
33-5	0	0	89,9	10,1	0	138	100	100
33-6	1,6	0	92,7	5,7	0	382	100	98,4
33-7	0	0	94,3	5,7	0	211	100	100
33-8	0,8	0	98,4	0,8	0	127	100	99,2
33-9	0	0	98,6	1,4	0	292	100	100
33-10/12	0	0	100	0	0	ca. 300	100	100
35-1	29,4	5,9	4,7	23,4	36,6	320	57,5	34,0
35-2	25,1	1,0	16,9	54,9	2,1	419	96,9	72,8
35-3	4,3	12,7	34,0	38,6	10,4	259	76,9	85,3
35-4	35,7	5,4	39,5	10,1	9,3	129	85,3	55,0
35-5	2,3	12,6	57,5	25,3	2,3	435	85,1	95,6
35-6	6,0	4,2	61,4	24,8	3,6	334	92,2	90,4
35-7	2,8	3,2	61,5	31,9	0,6	317	96,2	96,6
35-8	5,9	0	70,6	23,5	0	268	100	94,1
35-9	0,4	0	89,2	10,4	0	231	100	99,6
35-10	9,2	0	90,8	0	0	207	100	90,8
35-11	0,6	0	96,6	2,8	0	175	100	99,4
35-12	0,3	2,0	97,7	0	0	305	98,0	99,7
36-1	0	0,8	85,9	13,3	0	241	99,2	100
36-2	0	0,6	93,9	5,5	0	472	99,4	100
36-3	0,4	0	94,3	5,3	0	209	100	99,6
36-4	0	0	98,0	0	2,0	246	98,0	98,0
36-5	0	0,2	99,7	0,1	0	851	99,8	100
36-6	0	0	99,7	0	0,3	306	99,7	99,7
36-7	0	0	99,8	0,2	0	436	100	100
36-8/12	0	0	100	0	0	ca. 300	100	100
Durchschnitt	3,7	5,3	82,5	7,6	0,9			

Tab. 44a, Fortsetzung

D^RE^Rs-Isolate: Kolonien vom selektiven Medium isoliert

1. Passage

Nr.	D ^R E ^S	D ^S E ^R	D ^R E ^R	D ^S E ^S	Kol.	Transmission	
						D ^R	E ^R
1*	5,7	2,6	90,8	0,9	228	96,5	93,4
2	0,8	1,1	97,5	0,6	1037	98,3	98,6
3	0	2,4	97,6	0	836	97,6	100
4	0	1,8	97,8	0,4	791	97,8	99,6
5	0	1,1	98,4	0,5	632	98,4	99,5
6	0,2	1,0	98,8	0	589	99,0	99,8
7	0	0,1	98,9	1,0	689	98,9	99,0
8	0,4	0,2	98,9	0,5	1282	99,3	99,1
9	0,2	0,6	99,0	0,2	1249	99,2	99,6
10	1,0	0	99,0	0	876	100	99,0
11	0,9	0	99,1	0	823	100	99,1
12	0,2	0,3	99,2	0,3	598	99,4	99,5
13	0,2	0,1	99,5	0,2	1354	99,7	99,6
14	0,4	0,1	99,5	0	1186	99,9	99,6
15	0,5	0	99,5	0	566	100	99,5
16	0,2	0	99,8	0	988	100	99,8
17/18	0	0	100	0	ca. 500	100	100
Durchschnitt	0,6	0,6	98,5	0,3			

2. Passage

Nr.	D ^R E ^S	D ^S E ^R	D ^R E ^R	(D ^R E ^R) ^S	D ^S E ^S	Kol.	Transmission	
							D ^R	E ^R
1-1	0	0	2,9	97,1	0	349	100	100
1-2	0	0,4	99,6	0	0	274	99,6	100
1-3	0	0,3	99,7	0	0	371	99,7	100
1-4/12	0	0	100	0	0	ca. 300	100	100
Durchschnitt	0	0,05	91,85	8,1	0			

Tab. 44b

D^RE^Sns-Isolate

1. Passage

Nr.	D ^R E ^S	D ^S E ^R	D ^R E ^R	D ^S E ^S	Kol.	Transmission	
						D ^R	E ^S
1	64,5	2,1	0,3	33,1	290	64,8	97,6
2*	85,2	0,6	0	14,2	183	85,2	99,4
3	88,6	0	0	11,4	201	88,6	100
4	94,8	4,3	0	0,9	212	94,8	95,7
5*	95,2	3,9	0	0,9	454	95,2	96,1
6	96,6	0,3	0	3,1	290	96,6	99,7
7	98,4	0,4	0	1,2	754	98,4	99,6
8	98,8	1,2	0	0	343	98,8	98,8
9	98,9	1,1	0	0	664	98,9	98,9
10	99,5	0	0	0,5	548	99,5	100
11/12	100	0	0	0	ca.500	100	100
Durchschnitt	93,4	1,2	0,03	5,4			

2. Passage

Nr.	D ^R E ^S	D ^S E ^R	D ^R E ^R	D ^S E ^S	Kol.	Transmission	
						D ^R	E ^S
2-1/12	100	0	0	0	ca.300	100	100
5-1	94,4	0	0	5,6	259	94,4	100
5-2	98,6	0	0	1,4	425	98,6	100
5-3	98,7	0	0	1,3	227	98,7	100
5-4	99,4	0	0	0,6	356	99,4	100
5-5/6	99,7	0	0	0,3	ca.300	99,7	100
5-7/12	100	0	0	0	ca.300	100	100
Durchschnitt	99,6	0	0	0,4			

Tab. 44b , Fortsetzung

D^RE^S-Isolate

1. Passage

Nr.	D ^R E ^S	D ^S E ^R	D ^R E ^R	D ^S E ^S	Kol.	Transmission	
						D ^R	E ^S
1*	96,1	0	3,9	0	772	100	96,1
2	97,0	0,4	1,9	0,7	270	98,9	97,7
3	97,2	1,1	1,1	0,6	177	98,3	97,8
4	98,6	0,7	0,7	0	148	99,3	98,6
5	99,4	0,3	0,3	0	298	99,7	99,4
6	99,7	0,1	0,1	0,1	765	99,8	99,8
7	99,9	0	0,1	0	706	100	99,9
8-20	100	0	0	0	ca.500	100	100
Durchschnitt	99,4	0,1	0,4	0,1			

2. Passage

Nr.	D ^R E ^S	D ^S E ^R	D ^R E ^R	D ^S E ^S	Kol.	Transmission	
						D ^R	E ^S
1-1/5	100	0	0	0	ca.300	100	100
Durchschnitt	100	0	0	0			

Tab. 44c

D^SE^Rns-Isolate: Kolonien vom nicht-selektiven Medium isoliert

1. Passage

Nr.	D ^R E ^S	D ^S E ^R	D ^R E ^R	D ^S E ^S	Kol.	Transmission	
						E ^R	D ^S
1	0	78,8	0	21,2	288	78,8	100
2	0	79,2	0	20,8	144	79,2	100
3*	0	84,0	0	16,0	306	84,0	100
4	0	84,8	0	15,2	264	84,8	100
5	0	89,9	0	10,1	288	89,9	100
6	0	90,2	0	9,8	599	90,2	100
7*	0	91,0	0	9,0	133	91,0	100
8	0	91,7	0	8,3	145	91,7	100
9	0	93,1	0	6,9	218	93,1	100
10	0	95,0	0	5,0	101	95,0	100
11	0	95,6	0	4,4	251	95,6	100
12	0	98,7	1,3	0	841	100	98,7
13	0,1	98,9	1,0	0	1014	99,9	98,9
14	0	99,1	0,9	0	849	100	99,1
15	0	99,4	0	0,6	719	99,4	100
16-24	0	100	0	0	ca. 500	100	100
Durchschnitt							
	0,004	94,6	0,1	5,3			

2. Passage

Nr.	D ^R E ^S	D ^S E ^R	D ^R E ^R	D ^S E ^S	Kol.	Transmission	
						E ^R	D ^S
3-1	0	99,6	0	0,4	249	99,6	100
3-2	0	99,7	0	0,3	398	99,7	100
3-3/12	0	100	0	0	ca. 300	100	100
7-1	0	99,6	0	0,4	608	99,6	100
7-2/12	0	100	0	0	ca. 500	100	100
Durchschnitt							
	0	99,95	0	0,05			

Tab. 44c, Fortsetzung

D^SE^Rs-Isolate

1. Passage

Nr.	D ^R E ^S	D ^S E ^R	D ^R E ^R	D ^S E ^S	Kol.	Transmission	
						E ^R	D ^S
1	0	93,0	7,0	0	697	100	93,0
2	0	94,7	0	5,3	489	94,7	100
3	0	95,1	0	4,9	566	95,1	100
4*	0	95,7	0	4,3	93	95,7	100
5	0	96,0	0	4,0	348	96,0	100
6	0	97,0	0	3,0	166	97,0	100
7	0	97,4	0	2,6	350	97,4	100
8	0	99,2	0	0,8	486	99,2	100
9	0	99,4	0	0,6	339	99,4	100
10	0	99,8	0	0,2	511	99,8	100
11	0	99,9	0	0,1	896	99,9	100
12-17	0	100	0	0	ca.500	100	100
Durchschnitt	0	98,1	0,4	1,5			

2. Passage

Nr.	D ^R E ^S	D ^S E ^R	D ^R E ^R	(D ^R E ^R) ^S	D ^S E ^S	Kol.	Transmission	
							E ^R	D ^S
4-1/3	0	0	0	100	0	ca.300	100	0
4-4/6	0	100	0	0	0	ca.300	100	100
Durchschnitt	0	50,0	0	50,0	0			

Tab. 44d

Übersicht: homo-/heteroplasmische Klone

Isolat	Genera- tionen	homo- plasmisch	hetero- plasmisch	insgesamt getestet	
$D_{E}^{R,R}ns$	60	0	36	36	Anzahl %
		0	100	100	
	90	31	58	89	
		34,8	65,2	100	
$D_{E}^{R,R}s$	60	2	16	18	
		11,1	88,9	100	
	90	9	3	12	
		75,0	25,0	100	
$D_{E}^{R,S}ns$	60	2	10	12	Anzahl %
		16,7	83,3	100	
	90	18	6	24	
		75,0	25,0	100	
$D_{E}^{R,S}s$	60	13	7	20	
		65,0	35,0	100	
	90	5	0	5	
		100	0	100	
$D_{E}^{S,R}ns$	60	9	15	24	Anzahl %
		37,5	62,5	100	
	90	21	3	24	
		87,5	12,5	100	
$D_{E}^{S,R}s$	60	6	11	17	
		35,3	64,7	100	
	90	6	0	0	
		100	0	100	

Tab. 45

$\text{ana}^{\text{r}}\text{-14h}^{\text{-ade}^{\text{-}}} \times \text{diu}^{\text{r}}\text{-72 mei1-140 leu}^{\text{-}}$

Zygotenvermehrung und Markerverteilung

Zeit in EMM fl. (h)	Zygoten- titer	$\text{D}^{\text{R}}\text{A}^{\text{S}}$	$\text{D}^{\text{S}}\text{A}^{\text{R}}$	$(\text{D}^{\text{R}}\text{A}^{\text{R}})^{\text{S}}$	$\text{D}^{\text{S}}\text{A}^{\text{S}}$	Kol.
0	$0,5 \times 10^1$					
5	$0,5 \times 10^1$					
21	$3,0 \times 10^2$	57,0	32,0	11,0	0	100
27	$4,7 \times 10^2$	44,6	49,2	6,2	0	65
46	$1,4 \times 10^4$	48,2	36,3	2,3	13,2	355
72	$8,6 \times 10^5$	33,2	52,2	14,6	0	412
77	$4,0 \times 10^6$	30,8	48,0	17,1	4,1	146
95	$2,5 \times 10^7$	28,6	54,5	12,5	4,4	479
120	$5,1 \times 10^7$	30,1	52,6	10,4	6,9	376

Tab. 46

diu^r-301h⁻ade7 x ura1-171h⁺

Sporenanalysen nach Zwischenbebrütung in flüssigem
EMM-Medium

1. Ansatz

Nr.	D ^R	D ^S	Kol.
1-36	0	100	ca. 500
37/38	0,2	99,8	ca. 500
39	0,3	99,7	319
40	1,6	98,4	449
41	1,8	98,2	503
42	22,6	77,4	589
43	29,8	70,2	410
44	63,3	36,7	621
45	82,8	17,2	809
46	98,9	1,1	267
47	99,0	1,0	691
48	99,6	0,4	277
49	99,8	0,2	409
50	99,9	0,1	706
51-102	100	0	ca. 500

Durchsch. 57,8 42,2

2. Ansatz

Nr.	D ^R	D ^S	Kol.
1-49	0	100	ca. 500
50	2,3	97,7	1102
51	3,4	96,6	1286
52	19,8	80,2	293
53	38,0	62,0	798
54	39,5	60,5	474
55	78,7	21,3	550
56	85,4	14,6	212
57	96,3	3,7	433
58	97,6	2,4	457
59	98,0	2,0	604
60/61	98,1	1,9	ca. 500
62	98,4	1,6	939
63/64	99,4	0,6	ca. 500
65	99,5	0,5	216
66/67	99,6	0,4	ca. 500
68/69	99,7	0,3	ca. 500
70	99,9	0,1	764
71-101	100	0	ca. 500

Durchsch. 47,0 53,0

Tab. 46 , Fortsetzung

Sporenanalysen nach 10 Tagen KCl und Zwischenbebrütung
in flüssigem EMM-Medium

Nr.	D ^R	D ^S	Kol.
1-27	0	100	ca.500
28	0,2	99,8	527
29	0,9	99,1	229
30	8,7	91,3	874
31	24,3	75,7	767
32	25,5	74,5	826
33	26,4	73,6	129
34	44,9	55,1	341
35	45,3	54,7	554
36	55,8	44,2	617
37	59,1	40,9	1193
38	67,8	32,2	494
39	69,5	30,5	347
40	88,7	11,3	666
41/42	93,1	6,9	ca.500
43	96,1	3,9	675
44	96,7	3,3	394
45	97,0	3,0	305
46	98,0	2,0	391
47	98,8	1,2	900
48	98,9	1,1	614
49/50	99,0	1,0	ca.500
51	99,1	0,9	227
52	99,6	0,4	237
53-55	99,7	0,3	ca.500
56-58	99,8	0,2	ca.500
59	99,9	0,1	687
60-101	100	0	ca.500
Durchsch.	65,2	34,8	

Tab. 47

diu^r-301h⁻ade7 x ura1-171h⁺

Sporenanalysen, Tag 0

Nr.	D ^R	D ^S	Kol.
1-233	0	100	ca.500
234-236	0,1	99,9	ca.500
237/238	0,2	99,8	ca.500
239	0,3	99,7	352
240	0,4	99,6	488
241	2,3	97,7	385
242	6,1	93,9	593
243	7,5	92,5	492
244	9,8	90,2	762
245	10,8	89,2	713
246	11,9	88,1	927
247	20,7	79,3	1388
248	26,4	73,6	673
249	26,9	73,1	691
250	31,6	68,4	550
251	32,6	67,4	785
252	40,1	59,9	1096
253	41,3	58,7	831
254	41,8	58,2	727
255	46,6	53,4	624
256	47,2	52,8	540
257	49,6	50,4	819
258	54,6	45,4	1611
259	69,1	30,9	471
260	71,2	28,8	347
261	85,3	14,7	462
262	88,5	11,5	478
263	92,2	7,8	735
264	94,6	5,4	594
265	97,1	2,9	451
266	97,6	2,4	286
267	97,7	2,3	725
268	97,8	2,2	455
269	98,1	1,9	413
270	98,3	1,7	541
271	98,7	1,3	625
272	99,0	1,0	523
273	99,1	0,9	335
274	99,5	0,5	436
275	99,7	0,3	750
276	99,8	0,2	473
277-298	100	0	ca.500
Durchsch.	14,7	85,3	

Tab. 47 , Fortsetzung

Sporenanalysen nach 10 Tagen KCl

Nr.	D ^R	D ^S	Kol.
1-156	0	100	ca. 500
157	0,8	99,2	1059
158	5,5	94,5	219
159	10,3	89,7	243
160	14,2	85,8	613
161	17,7	82,3	1920
162	36,1	63,9	368
163	39,2	60,8	408
164	42,0	58,0	200
165	44,1	55,9	735
166	58,3	41,7	1474
167	60,9	39,1	787
168	61,8	38,2	170
169	67,0	33,0	849
170	75,5	24,5	449
171	78,5	21,5	312
172	79,2	20,8	770
173	83,9	16,1	255
174	84,0	16,0	605
175	85,5	14,5	511
176	88,1	11,9	168
177	93,5	6,5	168
178	93,6	6,4	47
179	94,9	5,1	257
180	95,1	4,9	697
181	96,7	3,3	688
182/183	98,1	1,9	318/268
184	98,4	1,6	706
185	98,8	1,2	1255
186	98,9	1,1	555
187/188	99,0	1,0	ca. 500
189/190	99,1	0,9	ca. 500
191	99,3	0,7	874
192-196	99,4	0,6	ca. 500
197-200	99,5	0,5	ca. 500
201-204	99,6	0,4	ca. 500
205/206	99,7	0,3	ca. 500
207-210	99,8	0,2	ca. 500
211-213	99,9	0,1	ca. 500
214-298	100	0	ca. 500
Durchsch.	44,2	55,8	

Tab. 48

diu^r-301h⁻ade7 x ura1-171h⁺

Sporenanalysen nach 2 Tagen auf Malzagar

Nr.	D ^R	D ^S	Kol.	Kern- marker	Paarungs- typ
1-3	0	100	ca.500	ADE URA	h ⁻
4-9	0	100	ca.500	ADE URA	h ⁺
10-18	0	100	ca.500	ade URA	h ⁻
19-27	0	100	ca.500	ade URA	h ⁺
28	0	100	ca.500	ade URA	h ⁹⁰
29-31	0	100	ca.500	ADE ura	h ⁻
32/33	0	100	ca.500	ADE ura	h ⁹⁰
34	0	100	ca.500	ade ura	h ⁻
35	0,2	99,8	553	ade URA	h ⁻
36	0,3	99,7	629	ADE ura	h ⁹⁰
37/38	0,8	99,2	ca.500	ADE URA	h ⁻
39	1,3	98,7	682	ADE URA	h ⁺
40	1,6	98,4	387	ade URA	h ⁺
41	1,8	98,2	517	ADE ura	h ⁻
42	2,2	97,8	536	ADE URA	h ⁻
43	2,4	97,6	42	ade URA	h ⁻
44	2,6	97,4	617	ADE URA	h ⁻
45	3,0	97,0	494	ADE URA	h ⁺
46	3,4	96,6	437	ade URA	h ⁺
47	3,8	96,2	1210	ade URA	h ⁻
48	5,4	94,6	629	ADE URA	h ⁻
49	9,4	90,6	671	ADE URA	h ⁺
50	9,7	90,3	700	ADE URA	h ⁺
51	10,1	89,9	736	ADE URA	h ⁻
52	10,4	89,6	647	ADE URA	h ⁻
53	10,9	89,1	385	ADE URA	h ⁻
54	11,0	89,0	401	ade URA	h ⁻
55	11,4	88,6	446	ADE URA	h ⁻
56	11,5	88,5	676	ADE ura	h ⁺
57	12,9	87,1	433	ADE URA	h ⁺
58	19,9	80,1	707	ADE URA	h ⁺
59	21,6	78,4	625	ade ura	h ⁺
60	30,6	69,4	432	ADE ura	h ⁹⁰
61	31,1	68,9	911	ADE URA	h ⁻
62	56,6	43,3	1048	ADE ura	h ⁹⁰
63	67,3	32,7	425	ade URA	h ⁺
64	71,5	28,5	239	ADE ura	h ⁻
65	89,2	10,8	582	ade ura	h ⁻
66	93,6	6,4	812	ade URA	h ⁺
67	94,1	5,9	692	ADE URA	h ⁻
68	98,3	1,7	939	ade URA	h ⁻
69	99,4	0,6	322	ADE URA	h ⁻
70	99,8	0,2	1001	ade ura	h ⁻

Tab. 48, Fortsetzung

Nr.	D ^R	D ^S	Kol.	Kern- marker	Paarungs- typ
71	99,8	0,2	1433	ade URA	h ⁺
72	99,9	0,1	1450	ade URA	h ⁻
73	99,9	0,1	1543	ade URA	h ⁺
74-83	100	0	ca.500	ADE URA	h ⁻
84-89	100	0	ca.500	ADE URA	h ⁺
90-93	100	0	ca.500	ade URA	h ⁻
94-99	100	0	ca.500	ade URA	h ⁺
100	100	0	677	ADE ura	h ⁹⁰
101	100	0	580	ade ura	h ⁻
102	100	0	473	ade ura	h ⁺
Durchsch.	41,2	58,8			
Freispor- analyse	53,3	46,7	1643		

Kernmarker-Verteilung:

ADE URA 44 Sporenklone
ade URA 41
ADE ura 11
ade ura 6

Paarungstyp-Verteilung:

h⁹⁰ 7 Sporenklone
h⁺ 42
h⁻ 53

Uniparental sensible Sporenklone wurden auch durch direktes Plattieren auf Antibiotikamedium ermittelt.

Tab. 48, Fortsetzung

Sporenanalysen nach 3 Tagen auf Malzagar

Nr.	D ^R	D ^S	Kol.	Kern- marker	Paarungs- typ
1-3	0	100	ca. 500	ADE URA	h ⁻
4-10	0	100	ca. 500	ADE URA	h ⁺
11-17	0	100	ca. 500	ade URA	h ⁻
18-23	0	100	ca. 500	ade URA	h ⁺
24/25	0	100	ca. 500	ADE ura	h ⁻
26	0	100	629	ADE ura	h ⁺
27	0,2	99,8	511	ADE URA	h ⁺
28	0,3	99,7	1109	ADE URA	h ⁻
29	0,3	99,7	1049	ade URA	h ⁻
30	0,4	99,6	511	ADE URA	h ⁺
31	0,6	99,4	661	ade URA	h ⁺
32	0,7	99,3	697	ADE URA	h ⁻
33	1,5	98,5	469	ADE URA	h ⁺
34	4,8	95,2	647	ade URA	h ⁺
35	7,4	92,6	390	ade URA	h ⁻
36	10,6	89,4	566	ADE URA	h ⁻
37	11,8	88,2	756	ADE URA	h ⁻
38	13,1	86,9	864	ADE URA	h ⁻
39	15,4	84,6	766	ade URA	h ⁺
40	15,7	84,3	677	ade URA	h ⁺
41	16,4	83,6	923	ade URA	h ⁻
42	17,3	82,7	699	ade URA	h ⁺
43	20,0	80,0	690	ADE URA	h ⁻
44	20,2	79,8	494	ADE URA	h ⁻
45	21,5	78,5	638	ADE ura	h ⁻
46	28,2	71,8	518	ade URA	h ⁺
47	29,7	70,3	720	ADE URA	h ⁺
48	29,8	70,2	1210	ADE URA	h ⁻
49	32,1	67,9	1033	ade ura	h ⁺
50	40,1	59,9	354	ade URA	h ⁻
51	44,5	55,5	1069	ADE URA	h ⁻
52	48,3	51,7	346	ADE URA	h ⁺
53	62,4	37,6	572	ADE ura	h ⁺
54	81,2	18,8	451	ADE URA	h ⁺
55	83,6	16,4	483	ade URA	h ⁻
56	94,8	5,2	967	ade ura	h ⁻
57	96,9	3,1	786	ADE URA	h ⁺
58	99,4	0,6	665	ADE URA	h ⁺
59	99,6	0,4	757	ADE URA	h ⁺
60/61	99,8	0,2	ca. 500	ade URA	h ⁻
62	99,8	0,2	640	ADE URA	h ⁺
63/64	99,9	0,1	ca. 500	ade URA	h ⁻
65	99,9	0,1	815	ade URA	h ⁺
66	99,9	0,1	1075	ade ura	h ⁺

Tab. 48 , Fortsetzung

Nr.	D ^R	D ^S	Kol.	Kern- marker	Paarungs- typ
67-75	100	0	ca.500	ADE URA	h ⁻
76-82	100	0	ca.500	ADE URA	h ⁺
83-85	100	0	ca.500	ADE URA	h ⁻ ₉₀
86-94	100	0	ca.500	ade URA	h ⁻
95-99	100	0	ca.500	ade URA	h ⁺
100/101	100	0	ca.500	ade ura	h ⁻
102	100	0	498	ade ura	h ⁺
Durchsch.	52,4	47,6			
Freispor- analyse	59,8	40,2	1768		

Kernmarker-Verteilung:

ADE URA	49	Sporenklone
ade URA	42	
ADE ura	5	
ade ura	6	

Paarungstyp-Verteilung:

h ⁹⁰	3
h ⁺	49
h ⁻	50

Tab. 48, Fortsetzung

Sporenanalysen nach 5 Tagen auf Malzagar

Nr.	D ^R	D ^S	Kol.	Kern- marker	Paarungs- typ
1-8	0	100	ca. 500	ADE URA	h ⁻
9/10	0	100	ca. 500	ADE URA	h ⁺
11-13	0	100	ca. 500	ade URA	h ⁻
14-18	0	100	ca. 500	ade URA	h ⁺
19/20	0	100	ca. 500	ADE ura	h ⁻
21/22	0	100	ca. 500	ade ura	h ⁻
23	0,1	99,9	679	ADE URA	h ⁺
24	0,1	99,9	680	ade URA	h ⁻
25/26	0,2	99,8	ca. 500	ade URA	h ⁻
27	0,2	99,8	511	ADE URA	h ⁻
28	0,4	99,6	675	ADE URA	h ⁺
29	0,5	99,5	430	ade ura	h ⁻
30	0,6	99,4	522	ADE URA	h ⁻
31	1,0	99,0	621	ADE URA	h ⁻
32	1,8	98,2	380	ade URA	h ⁺
33	2,4	97,6	382	ADE URA	h ⁺
34	2,6	97,4	538	ade ura	h ⁺
35	2,9	97,1	863	ADE URA	h ⁺
36	4,2	95,8	695	ADE URA	h ⁺
37	4,7	95,3	508	ADE URA	h ⁻
38	7,4	92,6	284	ade URA	h ⁻
39	10,0	90,0	319	ade ura	h ⁺
40	10,4	89,6	586	ADE URA	h ⁺
41	11,3	88,7	453	ade ura	h ⁺
42	14,0	86,0	598	ADE URA	h ⁺
43	17,6	82,4	459	ade URA	h ⁺
44	18,9	81,1	625	ADE URA	h ⁻
45	20,2	79,8	742	ADE URA	h ⁻
46	21,8	78,2	783	ADE URA	h ⁻
47	23,1	76,9	710	ade URA	h ⁺
48	23,1	76,9	757	ADE URA	h ⁹⁰
49	25,6	74,4	648	ade URA	h ⁻
50	25,7	74,3	678	ADE URA	h ⁺
51	28,1	71,9	303	ade URA	h ⁻
52	28,6	71,4	266	ADE ura	h ⁺
53	28,9	71,1	863	ade URA	h ⁺
54	30,8	69,2	552	ADE URA	h ⁺
55	33,7	66,3	347	ADE URA	h ⁹⁰
56	35,5	64,5	645	ADE URA	h ⁻
57	40,9	59,1	609	ade URA	h ⁺
58	42,8	57,2	719	ADE URA	h ⁻
59	57,0	43,0	446	ADE ura	h ⁺
60	64,6	35,4	458	ADE URA	h ⁺
61	86,1	13,9	1289	ade URA	h ⁺

Tab. 48, Fortsetzung

Nr.	D ^R	D ^S	Kol.	Kern- marker	Paarungs- typ
62	93,3	6,7	885	ADE URA	h ⁻
63	95,3	4,7	386	ade URA	h ⁺
64	98,1	1,9	1063	ADE URA	h ⁺
65	98,7	1,3	862	ADE ura	h ⁻
66/67	99,5	0,5	ca.500	ade URA	h ⁻
68	99,6	0,4	750	ade URA	h ⁻
69	99,6	0,4	481	ade URA	h ⁺
70	99,6	0,4	274	ade ura	h ⁺
71	99,7	0,3	363	ade ura	h ⁻
72	99,8	0,2	583	ade URA	h ⁻
73-78	100	0	ca.500	ADE URA	h ⁻
79-83	100	0	ca.500	ADE URA	h ⁺
84-88	100	0	ca.500	ade URA	h ⁻
89-95	100	0	ca.500	ade URA	h ⁺
96/97	100	0	ca.500	ADE ura	h ⁻
98-100	100	0	ca.500	ADE ura	h ⁺
101/102	100	0	ca.500	ade ura	h ⁻

Durchsch. 47,2 52,8

Freispor-
analyse 36,7 63,3 1026

Kernmarker-Verteilung:

ADE URA 44 Sporenklone
ade URA 38
ADE ura 10
ade ura 10

Paarungstyp-Verteilung:

h⁹⁰ 2
h⁺ 49
h⁻ 51

7 Tage auf Malzagar:

Durchsch. 55,5 44,5

Freispor-
analyse 48,4 51,6 1773

Kernmarker-Verteilung:

ADE URA 30 Sporenklone
ade URA 36
ADE ura 17
ade ura 19

Paarungstyp-Verteilung:

h⁹⁰ 5
h⁺ 43
h⁻ 54

Tab. 48, Fortsetzung

Sporenanalysen nach 7 Tagen auf Malzagar

Nr.	D ^R	D ^S	Kol.	Kern- marker	Paarungs- typ
1-3	0	100	ca.500	ADE URA	h ⁻
4/5	0	100	ca.500	ADE URA	h ⁺
6-10	0	100	ca.500	ade URA	h ⁺
11-14	0	100	ca.500	ade URA	h ⁺
15-18	0	100	ca.500	ADE ura	h ⁻
19-21	0	100	ca.500	ADE ura	h ⁺
22/23	0	100	ca.500	ADE ura	h ⁹⁰
24-27	0	100	ca.500	ade ura	h ⁻
28	0,2	99,8	615	ADE URA	h ⁺
29	0,2	99,8	523	ADE URA	h ⁻
30	0,3	99,7	343	ade URA	h ⁻
31	0,4	99,6	957	ade URA	h ⁹⁰
32	0,4	99,6	506	ade ura	h ⁺
33	0,5	99,5	420	ADE ura	h ⁻
34	0,8	99,2	384	ADE URA	h ⁺
35	1,6	98,4	510	ade ura	h ⁺
36	1,9	98,1	377	ADE URA	h ⁻
37	1,9	98,1	313	ade URA	h ⁻
38	2,5	97,5	511	ADE URA	h ⁺
39	4,6	95,4	433	ade URA	h ⁻
40	4,7	95,3	1262	ade URA	h ⁻
41	12,7	87,3	581	ade ura	h ⁻
42	20,4	79,6	901	ade URA	h ⁺
43	24,5	75,5	723	ade ura	h ⁺
44	26,2	73,8	252	ade URA	h ⁹⁰
45	32,3	67,7	656	ADE URA	h ⁹⁰
46	33,1	66,9	1410	ade URA	h ⁻
47	49,4	50,6	573	ADE URA	h ⁻
48	70,0	30,0	617	ade ura	h ⁻
49	83,3	16,7	617	ade URA	h ⁺
50	96,5	3,5	373	ade URA	h ⁺
51	97,7	2,3	345	ADE URA	h ⁻
52	99,2	0,8	130	ADE URA	h ⁻
53	99,8	0,2	453	ADE URA	h ⁺
54	99,9	0,1	731	ade URA	h ⁻
55-62	100	0	ca.500	ADE URA	h ⁻
63-69	100	0	ca.500	ADE URA	h ⁺
70-78	100	0	ca.500	ade URA	h ⁻
79-85	100	0	ca.500	ade URA	h ⁺
86/87	100	0	ca.500	ADE ura	h ⁻
88-92	100	0	ca.500	ADE ura	h ⁺
93-98	100	0	ca.500	ade ura	h ⁻
99-102	100	0	ca.500	ade ura	h ⁺

Tab. 49

Zusammenfassung der Werte aus Tab. 46-48:
Uniparentale in Sporenklonen aus Kreuzungen
 $diu^r-301h^-ade^- \times ura1-171h^+$

Bedingungen	% Uniparentale			
	UPS	UPR	UPinsg.	BP
Tag 0	78,2	7,4	85,6	14,4
10 Tage KCl	52,4	28,5	80,9	19,1
Zwischenbebrütung in EMM flüssig				
1. Ansatz	35,3	51,0	86,3	13,7
2. Ansatz	48,5	30,7	79,2	20,8
10 Tage KCl	26,7	41,6	68,3	31,7
2 Tage Malz	33,3	28,4	61,7	38,3
3 Tage Malz	25,5	35,3	60,8	39,2
5 Tage Malz	21,6	29,4	51,0	49,0
7 Tage Malz	26,5	47,0	73,5	26,5

Tab. 50

Freisporanalyse $\text{ana}^{\text{R}}-14\text{h}^{\text{R}}\text{ade}7 \times \text{diu}^{\text{R}}-301\text{h}^{\text{R}}\text{ura}1$
Verhalten von $(\text{A}^{\text{R}}\text{D}^{\text{R}})^{\text{S}}$ -Isolaten

Nr.	$\text{D}^{\text{R}}\text{A}^{\text{S}}$	$\text{D}^{\text{S}}\text{A}^{\text{R}}$	$\text{D}^{\text{R}}\text{A}^{\text{R}}$	$(\text{D}^{\text{R}}\text{A}^{\text{R}})^{\text{S}}$	$\text{D}^{\text{S}}\text{A}^{\text{S}}$	Kol.
	8,2	14,9	0	75,7	1,2	866
1	11,2	24,4	0	63,9	0,5	385
2	3,4	26,1	0	70,5	0	654
3	0,6	48,6	0	50,8	0	508
4	0,4	53,8	0	45,8	0	480
5	36,6	13,8	0	42,6	7,0	298
6	43,3	7,1	0	38,3	11,3	353

17 Generationen Zwischenbebrütung in flüssigem
Glucose-Medium

1	4,0	36,0	0	58,0	2,0	150
2	2,6	31,5	0	65,6	0,3	343
3*	1,6	42,6	0	52,8	3,0	441
4	0,9	38,8	0	60,3	0	340
5*	34,5	12,6	0	46,5	6,4	675
6*	49,6	12,5	0	27,5	10,4	472

*) $(\text{A}^{\text{R}}\text{D}^{\text{R}})^{\text{S}}$ -Isolate wurden weiteruntersucht

Tab. 51

(A^RD^R)S-Isolate aus der Kreuzung
ana^r-14h⁻ade7 x diu^r-301h⁺ura1

nach weiteren 17 Generationen Zwischenbebrütung in
flüssigem Glucose-Medium

Nr.	D ^R A ^S	D ^S A ^R	D ^R A ^R	(D ^R A ^R) ^S	D ^S A ^S	Kol.
3-1	0	15,6	0	77,8	6,6	45
3-2	100	0	0	0	0	186
3-3	41,0	2,7	0	51,5	4,8	561
3-4	16,3	3,0	0	79,9	0,8	632
3-5	6,3	10,6	0	83,1	0	479
5-1	0	50,9	0	40,0	9,1	165
5-2	19,8	0,3	0	79,9	0	576
5-3	4,9	0,5	0	94,6	0	204
5-4	24,2	0	0	75,8	0	231
5-5	0,2	18,6	0	81,0	0,2	437
5-6	57,0	0	0	43,0	0	86
5-7	16,3	7,6	0	73,4	2,7	184
5-8	3,1	35,1	0	53,7	8,1	259
5-9	39,3	14,2	0	42,8	3,7	484
5-10	48,2	1,4	0	48,5	1,9	514
5-11	15,2	21,3	0	56,8	6,7	315
5-12	42,3	10,7	0	43,8	3,2	281
5-13	60,1	1,7	0	34,9	3,3	516
5-14	4,2	9,4	1,0	82,3	3,1	96
5-15	1,4	22,4	0	74,5	1,7	286
6-1	0	9,3	0	90,1	0,6	473
6-2	2,3	3,0	0	94,7	0	302
6-3	8,0	0	0	92,0	0	249
6-4	29,6	1,9	0	39,8	28,7	108
6-5	68,6	0	0	31,4	0	51
6-6	0	13,3	0	85,5	1,2	83
6-7	1,3	5,8	0	92,9	0	156
6-8	3,6	7,1	0	89,3	0	228
6-9	0,2	31,8	0	56,8	11,2	657
6-10	20,8	4,0	0	74,7	0,5	403
6-11	2,1	17,0	0	80,9	0	147
6-12	0	0	0	100	0	237
6-13	0	8,9	0	91,1	0	56
6-14	3,1	25,2	0	71,7	0	159
6-15	69,6	0	0	30,4	0	135
6-16	1,1	16,1	0	82,8	0	93
6-17	17,6	4,8	0	77,0	0,6	518
6-18	9,4	7,3	0	56,6	26,7	191
6-19	3,1	7,9	0	89,0	0	520
6-20	44,4	0,3	0	55,0	0,3	342
6-21	18,5	3,8	0	77,7	0	292

Tab. 52

Wachstum und Marker-Verteilung von
 $(A^{R_D}R)^S$ - Sporen aus der Kreuzung
 $ana^r-14h^-ade^- \times diu^r-301h^+ura^-$

Pass.	Zeit (h) in U fl. ratio- nen	Gene-	$D^{R_A}S$	$D^S A^R$	$(D^{R_A}R)^S$	$D^S A^S$	Kol.
$(A^{R_D}R)^S-1h^-ADE\ URA$							
1	0	0	16,3	19,3	61,6	2,8	560
	50	16,5	36,0	24,1	38,1	1,8	439
2	50	16,5	33,3	19,0	46,3	1,4	294
	71	24,5	28,5	32,8	36,0	2,7	186
	75	25	35,8	36,8	23,2	4,2	95
	93	33,5	19,6	33,3	41,9	5,2	577
3	93	33,5	29,4	37,5	32,0	1,1	344
	121	46,5	18,7	51,3	25,3	4,7	491
	125	47,5	19,7	50,3	24,0	6,0	579
4	125	47,5	19,6	49,7	27,6	3,1	489
	171	64,5	15,6	55,9	26,4	2,1	813
5	171	64,5	16,7	58,3	25,0	0	108
	216	84,5	15,8	55,8	25,0	3,4	505
6	216	84,5	13,0	65,3	21,1	0,6	346
	262	105,5	24,0	63,7	9,8	2,5	559
7	262	105,5	19,3	67,8	8,5	4,4	270
	334	122,5	29,2	56,8	11,4	2,6	229
8	334	122,5	22,6	64,7	11,0	1,7	173
	382	143,5	28,4	65,4	2,4	3,8	547
9	382	143,5	23,6	66,0	4,8	5,6	482
	431	154	21,8	70,7	4,4	3,1	298
10	529	170	23,5	68,0	6,2	2,3	643

Tab. 52, Fortsetzung

Pass.	Zeit (h) in U fl.	Gene- ratio- nen	$D^{R_A} S$	$D^{S_A} R$	$(D^{R_A} R)^S$	$D^{S_A} S$	Kol.
$(A^{R_D} R)^S - 2h^+ ADE URA$							
1	0	0	49,8	0	49,8	0,4	221
	50	18	79,5	2,4	17,3	0,8	870
2	50	18	76,5	1,3	22,2	0	162
	71	28	73,8	2,3	21,3	2,6	267
	75	31	82,7	1,2	15,1	1,0	937
	93	34,5	68,6	1,9	28,9	0,6	993
3	93	34,5	71,4	1,2	26,5	0,9	423
	121	48	66,9	3,6	25,2	4,3	278
	125	50	73,9	1,5	22,8	1,8	776
4	125	50	79,6	2,4	14,8	3,2	656
	171	67	75,3	3,3	20,2	1,2	723
5	171	67	67,9	5,2	26,9	0	193
	216	88	73,9	4,0	19,2	2,9	593
6	216	88	83,7	3,8	11,5	1,0	498
	262	107	79,9	8,1	7,0	5,0	482
7	262	107	85,3	7,5	3,6	3,6	252
	334	125,5	75,4	12,0	8,5	4,1	532
8	334	125,5	73,0	12,2	7,0	7,8	115
	382	146	82,8	9,9	2,2	5,1	313
9	382	146	77,7	12,4	2,0	7,9	355
	431	166	77,9	14,9	3,1	4,1	538

ursprüngliche Verteilung nach Freisporanalyse:

12,4	39,0	48,1	0,5	1599
------	------	------	-----	------

DISKUSSION

Die mitochondriale Transmissionsgenetik untersucht die Vorgänge, durch die mitochondriale Gene von Zelle zu Zelle und von Generation zu Generation weitergegeben werden. Sie analysiert, wie Genome untereinander rekombinieren und segregieren. Untersuchungen über mitochondriale Transmissionsgenetik sind an verschiedenen Organismen, wie z.B. den Hyphenpilzen *Aspergillus* und *Podospora* und an dem Pantoffeltierchen *Paramecium* ausgeführt worden. Das weitaus am besten charakterisierte mitochondriale genetische System jedoch ist das der Bäckerhefe *Saccharomyces cerevisiae* (*S.cer.*). Der Vergleich mit anderen mitochondrialen Genomen, wie etwa dem von Säugern, hat jedoch gezeigt, daß das mtGenom von *S.cer.* sowohl in seiner Größe als auch in seinem Aufbau eine Ausnahme darstellt.

Der Hauptunterschied zwischen *S.cer.* und allen anderen bisher untersuchten Organismen besteht darin, daß die Bäckerhefe unter Gärungsbedingungen auch ohne mtDNS überleben kann. Alle anderen Systeme - darunter auch nahezu alle anderen Hefearten - sind unter allen Lebensbedingungen auf mitochondriale genetische Information angewiesen.

Um zu allgemein gültigen Aussagen über die Bedeutung des mtGenoms für den Organismus zu kommen, muß das DNS-System der Mitochondrien an möglichst vielen verschiedenen Lebewesen untersucht werden.

In der vorliegenden Arbeit wird die mtTransmissionsgenetik bei der Spaltheife *Schizosaccharomyces pombe* (*Sch.pombe*) betrachtet. Dieser Organismus wird - wie *S.cer.* - zu den Ascomyceten gerechnet.

Sch.pombe zeigt jedoch aufgrund verschiedener taxonomischer Parameter relativ geringe Verwandtschaft mit S.cer. Sie kann nicht auf mitochondriale genetische Information verzichten; sie wird als petite-negativ bezeichnet (Bulder, 1964).

MITOCHONDRIALE MUTANTEN, KRITERIEN MITOCHONDRIALER VERERBUNG, KREUZUNGSANALYSEN MITOCHONDRIALER MUTANTEN

Wie bei der Bäckerhefe S.cer. werden auch bei Sch.pombe antibiotikaresistente mitochondriale Mutanten zu genetischen Experimenten benutzt. Um geeignete Mutanten für diese transmissionsgenetischen Versuche zu erhalten, wurden für jeden der Loci Antimycin-, Erythromycin-, Chloramphenicol-, Diuron- und Neomycinresistenz eine größere Zahl von Resistenzmutanten gesucht. Dies war dadurch erleichtert, daß Stämme zur Verfügung standen, welche durch die Wirkung eines mitochondrialen Mutators die spontane Mutatorfrequenz stark erhöhen (Seltz-Mayr und Wolf, in Vorbereitung). Zur Charakterisierung dieser Mutanten als extrachromosomal dienten die Kriterien der mitotischen Segregation, der Tetradenanalyse, der mitotischen Haploidisierung und der ethidiumbromid-induzierten Transmissionsverschiebung.

Der Nachweis der mitochondrialen Kodierung dieser Mutationsorte wurde durch die physische Kartierung von Deletionen der mtDNS erbracht, durch die genetische Marker wie Diuron- und Antimycinresistenz deletiert wurden.

Die Analyse zahlreicher Kreuzungen mitochondrialer Resistenzmutanten zeigt, daß mtMarker mit unterschiedlicher Häufigkeit transmittiert werden. Die Transmissionswerte für verschiedene Allele in einem bestimmten Locus dage-

gen sind nicht signifikant verschieden voneinander. Die Transmissionshäufigkeiten in Kreuzungen mit zwei oder mehr mtMarkern sind für cis- und trans-Konfiguration der geprüften Marker unterschiedlich. In den meisten Fällen erniedrigt ein weiterer Marker in cis-Stellung die Transmission des ersten.

Ein entsprechender Nachteil im Transmissionsverhalten besteht auch für die Rekombinantenklasse mit zwei mitochondrialen Resistenzallelen. Der Nachteil der doppelresistenten Genotypen wie z.B. N^{R^R} , D^{R^R} , $D^{R^R}C^R$, der in dieser Arbeit beschrieben wird, wurde auch in der mitochondrialen Genetik anderer Organismen gefunden:

C^{R^R} -Stämme von Paramecium aurelia wachsen langsamer und ihre Mitochondrien verschwinden schnell in gemischten Kulturen (Adoutte und Belisson, 1972). Die Autoren nehmen an, daß die Akkumulation von Mutationen, die mtRibosomen betreffen, zu einer weniger effizienten mtProteinsynthese führen.

Aus $O^{R^R}C^S \times O^{S^R}C^R$ -Kreuzungen von Kluyveromyces lactis kann man einen Überschuß an $O^{S^R}C^S$ - über $O^{R^R}C^R$ -Rekombinanten isolieren (Brunner et al., 1977). Das wird von den Autoren mit einer Polarität der doppelt sensitiven Mutanten ($O^{S^R}C^S$), vielleicht begründet durch Letalität des $O^{R^R}C^R$ -Typs, gedeutet.

Für Kreuzungen der Mutanten 64 oder 561 (cytoplasmische Mutationen, die die Ascosporenkeimung und die Cytochromausbildung beeinträchtigen) mit cap^R-1 -Mutanten von Podospora anserina, konnte man keine Rekombinantenklasse (64, cap^R-1) oder (561, cap^R-1) entdecken (Belcour und Begel, 1977).

Eine Kartierung der mtGene über Rekombinationshäufigkeit zwischen Antibiotikaresistenzmarkern ist aus mehreren

Gründen nicht möglich:

Kreuzungen in cis- und trans-Konfiguration liefern keine identischen Ergebnisse, und die Transmission aller C^R -Mutanten ist meist niedriger als 1%.

Für die Kartierung bleiben noch die beiden eng gekoppelten Marker A^R und D^R bzw. N^R und E^R . Geht man von der Situation bei *S.cer.* aus (Abschätzung der Rekombinationsfrequenzen siehe ERGEBNISSE, S.34-36), sind die beiden Resistenzbereiche (Antimycin, Diuron sowie Chloramphenicol, Erythromycin, Neomycin; vgl. Restriktionskarte S.35) zu weit voneinander entfernt, um Kopplung der Marker zu finden. Das bei *S.cer.* gekoppelte Markerpaar C/E scheitert für eine analoge Analyse bei *Sch.pombe* an der sehr geringen Transmission der C^R -Resistenz.

Mitochondriale atmungsdefekte Mutanten mit intakter Proteinsynthese (mit^-), die auch bei *Sch.pombe* beschrieben sind (Lückemann, Diplomarbeit 1977), scheiden deshalb aus, weil sie meist gar keine Transmission der Atmungsdefizienz in Diploiden zeigen. Das ist dadurch zu erklären, daß in einer aus RC- und RD-Molekülen gemischten Mitochondrienpopulation die Segregation zu Ungunsten der RD erfolgt.

Die Hauptaussagen dieser Arbeit wurden deshalb mit E^R -, D^R - und A^R -Mutanten erarbeitet, da Diuron- und Erythromycinresistenz reproduzierbare Rekombinationswerte aufweisen und da A^R und D^R das Verhalten enger Kopplung haben. A^R und D^R sind wahrscheinlich beides Mutationsorte in der Region der mtDNS, die für Cytochrom b kodiert (Burger und Wolf, 1981).

DAS BAKTERIOPHAGENMODELL MITOCHONDRIALER KREUZUNGEN UND SEINE EINSCHRÄNKUNGEN

Eine Kreuzung zwischen Genomen zweier mitochondrialer Mutanten ist formal vergleichbar einer Bakterienzelle, die von zwei Phagenmutanten infiziert ist. Dujon, Slonimski und Weill (1974) haben ein mathematisches Modell für mitochondriale Kreuzungen bei *S.cer.* ausgearbeitet, das aus dem von Visconti und Delbrück (1953) entwickelten für Bakterienkreuzungen abgeleitet ist. Das Dujon-Modell besteht aus einer Anzahl von Gleichungen, die die Verteilung aller möglichen Genotypen einer Kreuzung ausdrücken. Parameter dieser Gleichungen sind

- die Zahl der Paarungsrunden der mitochondrialen Genome,
- die Wahrscheinlichkeit eines Rekombinationsereignisses zwischen zwei Mutationsorten.

Dabei werden die beiden Annahmen gemacht, daß

- die Paarung zwischen allen Molekülen mit gleicher Wahrscheinlichkeit stattfinden kann, daß also die Moleküle einen "panmiktischen pool" bilden, und daß
- das Verhältnis der in die Zygote eingebrachten DNS-Moleküle der beiden Elternstämme (input) gleich dem der diploiden Nachkommen der entsprechenden Genotypen ist (output).

Anhand der Gleichungen lassen sich Kurven erstellen, in die die Ergebnisse der meisten mitochondrialen Kreuzungen von *S.cer.* sich gut einpassen lassen.

Die Kreuzungsanalysen mit den Markern D und E und auch mit D und C unter Standardbedingungen und nach Ethidiumbromidbehandlung eines Kreuzungspartners beweisen, daß auch bei *Sch.pombe* eine Beziehung zwischen Transmissionsfrequenz eines Markers und der Rekombinantenhäufigkeit besteht (vgl. Fig.14 und 15).

Das Modell von Dujon läßt allerdings einige Aspekte außer Betracht:

Die beiden mtDNS-Populationen in der Zelle durchmischen sich nicht so vollständig, daß jedes Molekül wirklich mit jedem anderen paaren und rekombinieren könnte (z.B. Strausberg und Perlman, 1978). Tetradenanalysen haben aufgezeigt, daß sich das Cytoplasma zum Zeitpunkt der ersten Zellteilung der Zygoten meist noch gar nicht oder nur wenig durchmischt hat (Wolf et al., 1977). Eine Zygotenteilung vor Cytoplasmadurchmischung ergibt zwei weitgehend homoplasmische Tochterzellen der beiden Parentaltypen. Bei *S.cer.* ist ein ähnlicher Vorgang zu beobachten, da endständige Knospen meist homoplasmisch sind (Birky et al., 1978).

Obwohl Mitochondrien - wie für *S.cer.* mehrfach gezeigt (z.B. Stevens, 1974) - ständig fusionieren und sich teilen, bilden sie doch eine gewisse Barriere für die Paarung von DNS-Molekülen. Hierzu kommt noch bei der Bäckerhefe, daß mehrere (2-8) mtDNS-Moleküle in Segregationseinheiten, sog. Chondriolithen, zusammengeschlossen sind (Williamson, 1976; Williamson et al., 1977). Für Moleküle innerhalb eines Chondriolithen bestehen sicher andere Möglichkeiten der Paarung als für Moleküle in zwei verschiedenen Segregationseinheiten. Präparate von fluoreszenzgefärbten Zellen von *Sch.pombe* (Wolf, pers. Mitteilung) zeigen jedoch eine Zahl von fluoreszierenden Partikeln, die in etwa mit der geschätzten Anzahl mtDNS-Moleküle (50-100) übereinstimmt. Auf diese Weise kann also nicht geklärt werden, ob auch bei *Sch.pombe* den Chondriolithen vergleichbare Organisationsformen der segregierenden Einheiten vorhanden sind.

Allerdings scheint dieser Zusammenschluß von Organell-DNS-Molekülen nicht nur im mitochondrialen Genom, sondern

auch bei Chloroplasten-DNS verwirklicht zu sein; hier sind mehrere Moleküle zu sog. Nucleoiden vereinigt (Van Winkle-Swift, 1980).

Eine weitere Einschränkung erfährt das Phagenanalogie-Modell der Rekombination von DuJon durch das Auftreten "uniparentaler Klone" (UP-Klone), in denen nur der Genotyp eines Elters exprimiert wird. Durch empfindliche Nachweismethoden (Plattieren von mehr als 10^6 Zellen auf Selektivmedien) kann wahrscheinlich gemacht werden, daß dieser Prozeß, der das eine oder andere Genom ausschaltet, in einer der ersten diploiden Generationen oder sogar in der Zygote selbst einsetzt. Gerade in Kreuzungen mit starkem Ungleichgewicht in der Markertransmission beider Elternstämme ist die Zahl der uniparentalen Klone beträchtlich.

Das DuJon-Modell mit den hier erwähnten Einschränkungen besitzt nur Gültigkeit in der Beschreibung genetischer Vorgänge in der Gesamtpopulation der Zellen, nicht aber für Ereignisse in der Nachkommenschaft einer einzigen Zygote.

Zygotenklonanalysen sind vergleichbar mit single-burst-Experimenten einer Phagenkreuzung. Gleichermäßen wie hier Phagenwürfe existieren, die nur einen der beiden reziproken Rekombinantentypen enthalten, gibt es auch Zygotenklone, in denen nur eine der beiden Rekombinantenklassen auftritt. Es treten Klone auf, die homoplasmisch für den doppelt resistenten Rekombinantentyp (z.B. D^{RR} als Nr.1 in Tab.28, 2. Ansatz) sowie auch für den doppelt sensitiven (z.B. D^{SS} als Nr. 20 in Tab.30) sind. Die Zygote ist also auch imstande, eine Minderheit von mtDNS-Molekülen zu fixieren.

Während auf Populationsebene kovariante Transmission von Markern auf einer Kopplungsgruppe zu beobachten ist,

zeigt sich keinerlei Kovarianz in Zygotenklonen. Das koordinierte Auftreten reziproker Rekombinantenklassen in Populationen ist in Zygotenklonen ebenfalls nicht zu finden. Obwohl aufgrund von Restriktionsanalysen aus mitochondrialen Rekombinantenklonen bei *S.cer.* gezeigt werden konnte, daß das Ergebnis der Rekombination auch auf molekularem Niveau nicht-reziprok ist, kann nichts über das Elementarereignis der Rekombination ausgesagt werden (Van Winkle-Swift und Birky, 1978). Reziproke Rekombination und nachfolgende selektive Replikation eines bestimmten Rekombinantenmolekültyps würde zu einem ähnlichen Ergebnis führen.

SEGREGATION MITOCHONDRIALER GENOME

- SEGREGATION OHNE ZELLTEILUNG

Der Tatbestand, daß aus einer heteroplasmischen Zygote ein diploider Klon hervorgeht, der ausschließlich aus homoplasmischen Diploiden besteht, läßt darauf schließen, daß zumindest ein Teil des Vorgangs der Segregation ohne Zellteilung abläuft.

Es kann als Regel in der Transmissionsgenetik der Mitochondrien und auch der Chloroplasten gelten, daß heteroplasmische Zellen selten sind. Es besteht die Tendenz zur Erreichung des homoplasmischen Zustands, und meistens ist die Segregation in den Zellen innerhalb von 10-20 Generationen abgeschlossen (Perlman et al., 1977). Wie für alle Regeln, so gibt es auch dafür Ausnahmen, die später diskutiert werden sollen.

Die Mechanismen, die heteroplasmische Zellen in homoplasmische umwandeln, sind offensichtlich außerordentlich verschieden.

Analysen des mtGenoms in Tierpopulationen zeigen, daß Einzelindividuen nur gleichförmige mtDNS-Kopien in ihren Zellen enthalten, auch wenn sie sich untereinander in den Restriktionsmustern ihrer mtDNS voneinander abheben (Laipis und Hauswirth, 1980).

Mechanismen, die dafür sorgen, daß entweder nur homoplasmische Zellen entstehen oder heteroplasmische schnell zu homoplasmischen übergehen, sind in verschiedenen Organismen unterschiedlich:

- Ausschluß von mtGenom

Bei verschiedenen Tieren zeigen mtGene vorwiegend oder ausschließlich mütterliche Vererbung, d.h. nur die mitochondriale genetische Information der Eizelle wird verwirklicht. Das wird im einfachsten Fall dadurch erreicht, daß die Mitochondrien der Spermien z.B. bei Tunikaten (Ursprung und Schabtach, 1965) nicht in die Eizelle eindringen können.

- Zerstörung von mtGenom

Die mtDNS in den Spermien des Seeigels und einiger anderer Tiere gelangt zwar in die Eizelle, wird aber dort zerstört (Birky, 1975).

Es ist auch denkbar, daß diese mtDNS nur phänotypisch inaktiviert oder an der Replikation gehindert wird, wofür es allerdings keine experimentellen Belege gibt.

- random drift

Die beiden genannten Möglichkeiten sind nur denkbar, wenn immer dasselbe der beiden mtGenome ausgeschaltet wird (hier meist das väterliche). Sie bieten keine Erklärungsmöglichkeit für Organismen wie *S.cer.* und *Sch.pombe*, in denen sowohl biparentale als auch uniparentale Klone entstehen. Ein Gleiches gilt für die Plastid-

denvererbung bei der Geranie (Tilney-Bassett, 1970) und bei der Grünalge *Chlamydomonas reinhardtii* (Sager, 1977), bei denen die Zellen sowohl UP als auch BP (biparentale) Klone produzieren.

Im Gegensatz zum Kern, der meist haploid oder diploid ist, stellt das Mitochondrien- und das Chloroplastengenom ein hochgradig polyploides System dar. Man kann eine Zelle deshalb als eine Population mitochondrialer bzw. plastidialer Genome beschreiben und für ihre Analyse die Konzepte der Populationsgenetik anwenden. Die Tendenz einer heteroplasmischen Zelle, in den homoplasmischen Zustand überzugehen, kann als das Ergebnis der Zufallsdrift (random drift) von Allelfrequenzen in einer Population von mtDNS-Molekülen in einer Zelle bzw. einem Zellklon angesehen werden. Dieser Vorgang ist der random drift in einer kleinen Mendel'schen Population vergleichbar. Es muß betont werden, daß die zellulären und molekularen Mechanismen, die in verschiedenen Systemen zu random drift führen, nicht vergleichbar sind, die formalen genetischen Konsequenzen bleiben aber dieselben.

Genetische Drift läßt sich kurz so erklären:

Mendel-Populationen zeigen im Laufe der Generationen eine Variation der Genhäufigkeit d.h. der Häufigkeit eines Allels p oder des komplementären Allels $q = 1-p$ aufgrund zufälliger Verteilung bei der Übertragung des Allels von Generation zu Generation. Solche zufälligen Schwankungen führen letztlich zum Verlust (Häufigkeit = 0%) oder zur Fixierung (Häufigkeit = 100%) des Allels (Crow und Kimura, 1970). Je geringer die Anzahl der Individuen der Population ist, umso schneller wird im Durchschnitt ein Locus genetisch festgelegt.

Eine formal mit so einer begrenzten Mendel'schen Popula-

tion vergleichbare Situation findet sich in der Zygote, die eine Population von vielen (150-200) mtDNS-Molekülen enthält. Die Moleküle tragen zwei unterschiedliche Allele, nämlich Resistenz bzw. Sensitivität gegen ein Antibiotikum. In der heteroplasmischen Zygote seien die Häufigkeiten beider Allele gleich ($p=q$; $p+q=1$). Nimmt man an, daß die Verteilung der Genotypen in einem Zygotenklon (d.h. den vegetativen Nachkommen einer einzelnen Zygote) in etwa die Allelverteilung in der Zygote widerspiegelt, so erwartet man für die Allelhäufigkeit eine Gauß-Verteilung um einen Mittelwert von 50%.

Durch die in der vorliegenden Arbeit gewählte Versuchsanordnung wurde die Populationsgröße der mtDNS-Moleküle dadurch konstant gehalten, daß die Zellteilung der Zygote durch Stickstoffentzug unterbunden wurde. Die Zellen zeigten dabei keine signifikante Letalität. Unter der Voraussetzung, daß der mtDNS-Stoffwechsel unter diesen Bedingungen wenigstens einige Zeit weiterläuft, müßte sich durch verschiedene Mechanismen, die später erläutert werden sollen, eine Verschiebung der Allelverhältnisse ergeben. Diese würde sich dann im Verhältnis der Phänotypen in der diploiden Zygotennachkommenschaft widerspiegeln, wenn den Zygoten nach verschiedener Zeitdauer des Stickstoffentzugs Gelegenheit zur Koloniebildung gegeben wird.

Das Ergebnis der Versuche zeigt, daß bereits zum Zeitpunkt 0 (24 Stunden nach Zygotenbildung) Klone auftreten, die das eine oder andere Allel fixiert haben (UP-Klone). Mit zunehmendem Zeitintervall zwischen Zygotenbildung und erster Teilung der Zygote verbreitert sich die Gaußverteilung um den Mittelwert. Das zeigt, daß auch ohne Zellteilungsaktivität Ereignisse stattgefunden haben, die in einzelnen Klonen das Allelverhältnis in die eine oder andere

Richtung verschoben haben. Das läßt sich mathematisch als eine Zunahme der Varianz ausdrücken. Gleichzeitig steigt die Zahl der Klone an, die das eine oder andere Allel fixiert haben. Das könnte so erfolgen: Jedes Konversionsereignis ändert die Allelhäufigkeit leicht, und wiederholte Konversionen können zur Fixierung eines Allels des Genorts führen (Birky und Skavaril, 1976; Ohta, 1977). Es gibt genetische und physikalische Beweise für diese Ereignisse in Hefekreuzungen (Birky, 1978).

In den meisten untersuchten Fällen sind die Verschleibungen der Allelfrequenzen nicht symmetrisch. Das ist wahrscheinlich auf unterschiedlich schnelle Replikation von mtMolekülen zurückzuführen, die kein oder ein oder zwei Mutantenallele tragen. Ein geringer Einfluß auf die Vermehrungsgeschwindigkeit der Zellen verschiedenen Genotyps ist auch nicht auszuschließen.

Die Experimente an *Sch.pombe* zeigen, daß in Abwesenheit von Zellteilung eine Veränderung in der mitochondrialen Allelzusammensetzung der Zygote vor sich geht. Mit zunehmender Dauer des Zygotenzustandes steigt die Zahl derjenigen Zygoten, die in ihrer diploiden Nachkommenschaft nur noch eines der beiden Allele exprimieren.

Welche zellulären und molekularen Vorgänge könnten random drift verursachen?

- Unterteilung in Subpopulationen

Wie bereits erwähnt, wird ein Allel umso schneller fixiert oder geht umso schneller verloren, je kleiner die Population ist. Eine Verringerung der Population (d.h. der segregierenden Einheiten) könnte durch eine Zusammenfassung von mtDNS-Molekülen in Chondriolithen (oder Nucleoide) stattgefunden haben.

Das erklärt jedoch nicht das Auftreten uniparentaler Klone.

- wiederholte Paarung mit Genkonversion

Bei *S.cer.* gibt es Hinweise dafür, daß das Elementarerereignis der Rekombination Genkonversion ist, wobei aber leider nichts über den genauen molekularen Mechanismus bekannt ist (Birky et al., 1978). Bei jeder Paarung von Molekülen mit unterschiedlichen Allelen erhöht ein Konversionsereignis die Frequenz des einen oder anderen Allels. Dies konnte durch Computersimulation wahrscheinlich gemacht werden (Birky und Skavaril, 1976).

- zufällige Replikation einzelner Moleküle

Ein Molekül wird aus der intrazellulären Population der mtGenome ausgewählt und repliziert; beide Kopien werden dem pool wieder zugeführt, solange, bis die benötigte Anzahl an mtDNS-Kopien erreicht ist.

Jeder Selektionsvorgang auf dieser Basis ist zufällig, d.h. die Wahrscheinlichkeit, mit der ein bestimmtes Molekül mit einem bestimmten Allel repliziert wird, ist durch die Häufigkeit des Allels in der Population bestimmt. Dieser Mechanismus führt zwar zu einer gewissen Änderung der Allelhäufigkeiten, wird aber niemals zur Fixierung eines Allels ausreichen, da kein Molekül aus der Population verloren geht. Zufallsreplikation erhöht jedoch die Varianz in den Allelfrequenzen und kann die Fixierung oder den Verlust eines Allels beschleunigen. Einige bakterielle Plasmide, die ebenfalls in vielen Kopien pro Zelle vorliegen, werden durch diese Art der Replikation vervielfältigt (Hashimoto u. Timmis, 1981). Zufällige Replikation für mtDNS ist in Maus-L-Zellen (Bogenhagen und Clayton, 1977) nachgewiesen. Für die Bäckerhefe dagegen geben Dichte-shift-Experimente den Hinweis, daß die mtDNS-Replikation nicht-statistisch

verläuft (Williamson und Fennel, 1974; Sena et al., 1975).

- Zerstörung von Molekülen

DNS wird zufällig zerstört und die zurückbleibenden Moleküle werden repliziert, bis die erforderliche Kopienzahl erreicht ist. Für die Chloroplasten-DNS in *Chlamydomonas* gibt es Untersuchungen über den Abbau von cp-Molekülen in der Zygote. DNS des väterlichen (mt^-) Elters wird schneller abgebaut. Dies führt zu einer bevorzugten Replikation des mütterlichen (mt^+) Genoms. Den Mechanismus kann man sich als Restriktions-Modifikations-System vorstellen (Sager, 1979). Die Nachkommen von *Chlamydomonas*-Zygoten exprimieren nahezu ausschließlich die maternalen Allele (mütterliche Vererbung).

Es könnten auch alle drei Mechanismen verbunden sein: Der Vorgang der Zerstörung von Molekülen kann mit Zufallsreplikation und Genkonversion gekoppelt sein. Wenn diese Vorgänge an einer kleinen Population von DNS-Molekülen angreifen, so kann es in relativ kurzer Zeit zu homoplasmischen Klonen kommen.

Random drift ist nicht ein Artefakt, der durch den Stickstoffentzug hervorgerufen wird. Sie wurde auch in *S.cer.*-Zygoten, in denen die Zellteilung durch die temperatursensible Mutation *cdc24* verhindert ist, beobachtet (Birky und Acton, unveröffentlicht).

In Fusionsexperimenten mit Protoplasten von *Sch.pombe*-Zellen wurde gezeigt, daß auch hier random drift stattfindet, da sich die Fusionsprodukte so lange nicht teilen, bis sie ihre Zellwand regeneriert haben.

Trotz der wachsenden Paarungswahrscheinlichkeit zwischen den mtDNS-Molekülen während der Aushungerung findet man keine Zunahme der Rekombinantenhäufigkeit während der gesamten Aushungerungsperiode, und der ursprüngliche Überschuß an doppelsensiblen Rekombinanten über doppelresistente vergrößert sich nicht. Auch Thrailkill und Birky (1980) finden keine Steigerung der Rekombinantenfrequenz in ihren Aushungerungsexperimenten, wogegen Sears (1980) ein Anwachsen von Rekombinanzahlen zwischen cpDNS-Markern in *Chlamydomonas* beobachtet. Das bedeutet jedoch nicht notwendigerweise einen Widerspruch, da sie die Zygosporien, die auch in der Natur eine Ruhepause vor dem Keimen haben, bis zu 25 Tagen aushungern kann. Bei *S.cer.* und *Sch.pombe* führt so langer N-Entzug zur Letalität.

Experimentelle Daten, die auf random drift von Organellgenomen als allgemeingültiges Phänomen der Organellgenetik schließen lassen, liegen vor für die Chloroplasten von *Perlagonium* (Tilney-Basset und Birky, nicht veröffentlicht) und von *Chlamydomonas reinhardtii* (Birky, VanWinkle-Swift, Sears, Boynton und Gillham, nicht veröffentlicht) sowie für Mitochondrien von *Saccharomyces cerevisiae* (Thrailkill und Birky, 1980) und *Schizosaccharomyces pombe* (Wolf et al., 1979).

Der zu *S.cer.* und *Sch.pombe* analoge Beweis für Zufalls-drift in *Chlamydomonas* wurde durch verzögerte Zellteilung sowohl in vegetativen Zygoten als auch in Zygosporien erbracht (Van Winkle-Swift, 1977 und 1978; Sears, 1979) (siehe auch Fig.55), ebenso durch Experimente, in denen homoplasmische diploide Zellen durch Fusion von Protoplasten identischen Paarungstyps konstruiert wurden (Matagne und Hermesse, 1980).

B.Sears Versuche sind mit den an *Sch.pombe* ausgeführten gut vergleichbar: Für drei gekoppelte Chloroplastenloci (Resistenz bzw. Sensitivität gegen Streptomycin, Erythro-

mycin, Spectinomycin) fand sie Änderungen im Verhältnis der cp-Allele als Funktion der Zeit. Kolonien von 2, 15 und 23 Tage alten biparentalen Zygosporenklonen wurden subkloniert und gestempelt und daraus die Häufigkeiten paternaler Allele bestimmt. Obwohl das Mittel annähernd dasselbe für alle drei Proben bleibt, wird das Verteilungsmuster mit zunehmendem Zygosporenalter U- oder L-förmig, d.h. es entstehen immer mehr Klone, die homoplasmisch entweder für das mütterliche oder das väterliche Allel sind. Als Konsequenz steigt natürlich auch die Varianz mit fortschreitendem Alter der Zygosporen (Fig.55). Zu analogen Ergebnissen kommen Thrallkill und Birky (1980) bei der Bäckerhefe *S.cer.* (Fig.54): Mit längerer Aushungerungszeit der Zygoten kommt es in immer mehr Zygotenklonen zur Fixierung des einen oder anderen Allels, d.h. zur Zunahme uniparentaler Klone. Und, wie es ein Charakteristikum für random drift ist, die mittlere Allelhäufigkeit in einer großen Ansammlung von Populationen - hier für die Zygoten einer Kreuzung - bleibt in etwa konstant.

- SEGREGATION BEI ZELLTEILUNG

Die durch random drift hervorgerufene Segregation von Allelen wird dadurch beeinflusst, daß sich bei jeder Zellteilung die Population der Moleküle auf die zwei Tochterzellen aufteilt. Wie schon eingangs erwähnt, kann diese Zellteilung bereits stattfinden, wenn sich das Cytoplasma noch nicht oder nur wenig durchmischt hat. Entstehen durch vollständige Plasmadurchmischung vor der ersten Teilung heteroplasmische Zygoten, so gibt es, ähnlich wie bei *S.cer.*, eine Anzahl von Zygotenklonen, die bereits nach 20 Generationen homoplasmisch sind. Dennoch dauert in einigen Klonen der Prozeß der Segregation we-

sentlich länger (ca.90 Generationen).

Diese langsame Segregation ist in mehreren Organismen (z.B.S.c.) nachgewiesen: Gewöhnlich weniger als 10%, in Ausnahmen bis zu 30% der Zygoten werden nicht rein für einen oder für beide Resistenzallele (C^R, E^R) (Forster und Kleese, 1975). In *Sch.pombe* beobachteten Del Giudice et al. (1977) in Kreuzungen mit P^R -(Paromomycinresistenz-) Stämmen, daß Segregation über mehr als 50 diploide Generationen gehen kann.

Heteroplasmatisch im Chloroplastengenom bleibende Zellen, sog. "persistent cytohets" wurden in *Chlamydomonas* schon 1971 beschrieben (Sager und Ramanis) und auch in neuester Zeit weiter erforscht (Bolen et al., 1980).

Auch in *S.cer.* sind solche "hets" als steady-state-Segreganden bekannt (Treat, Diss.1978).

Die Segregation im meiotischen System, also in Sporenklonen dauert wesentlich länger an als in Zygoten. Sporen aus einer Kreuzung $ana^r_h^- \times diu^r_h^+$ sind nach 170 Generationen in Flüssigmedium bezüglich ihrer Resistenzmarker noch heteroplasmisch.

Für die Gründe des unterschiedlichen Segregationsverhaltens in Sporen und Zygoten können nur Vermutungen angestellt werden: möglicherweise grundlegende physiologische Unterschiede zwischen mitotischen und meiotischen Bedingungen in der Zelle.

Auch in der Chloroplastengenetik von *Chlamydomonas* sind Unterschiede zwischen Segregationsmustern von cp-Genen in Zygoten und Zoosporen bekannt (Sager und Ramanis, 1976). Die Autoren diskutieren als Ursache ein unterschiedliches Enzymspektrum in meiotischen und mitotischen Zellen. Sicher ist der Unterschied in der Segregationsgeschwin-

digkeit nicht auf die verschiedenen Paarungstypallele der Zygote ($h^- \times mei1$). zurückzuführen, da diploide Fusionsklone aus Zellen identischen Paarungstyps vergleichbar schnell wie Zygotenklone segregieren.

Neben den in der vorliegenden Arbeit verwendeten Sch.pombe-Stämmen, die sich insgesamt von der Kollektion von Prof. Leupold in Bern ableiten, wurden in jüngster Zeit Stämme untersucht, die freundlicherweise von Herrn Gutz zur Verfügung gestellt wurden. Sie sind kreuzbar mit der Leupold-Kollektion, und sie zeigen ein verändertes Restriktionsmuster ihrer mtDNS. Mit Hilfe dieser Stämme könnten alle die hier angesprochenen Phänomene der Transmissionsgenetik wie Segregationsgeschwindigkeit, Rekombinationshäufigkeit, uniparentale Vererbung auf molekularer Ebene untersucht werden.

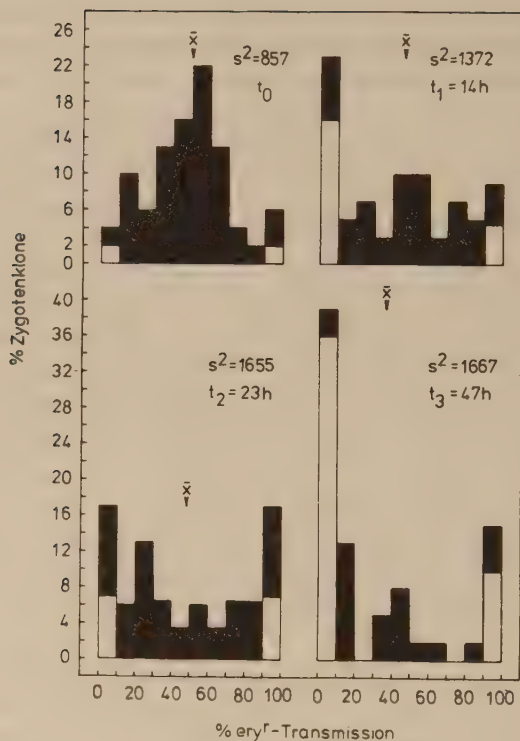


Fig. 54 Veränderung des Transmissionsmusters der mitochondrialen Erythromycinresistenz in Zygotenklonen aus der Kreuzung der beiden *Saccharomyces cerevisiae*-Stämme

5032A E^R $leu2-27$ $trp1-1ery^r$ $1 \times$ 5032B O^R $trp4oli^r$
(Experiment DW7), abhängig von unterschiedlich langer Zeitdauer (0-47 Stunden) der Aushungerung der Zygoten.

Die Zygotenklone sind in 10%-Intervallen der Transmission zusammengefaßt
(gezeichnet nach einem Experiment von Thrailkill und Birky, 1980)

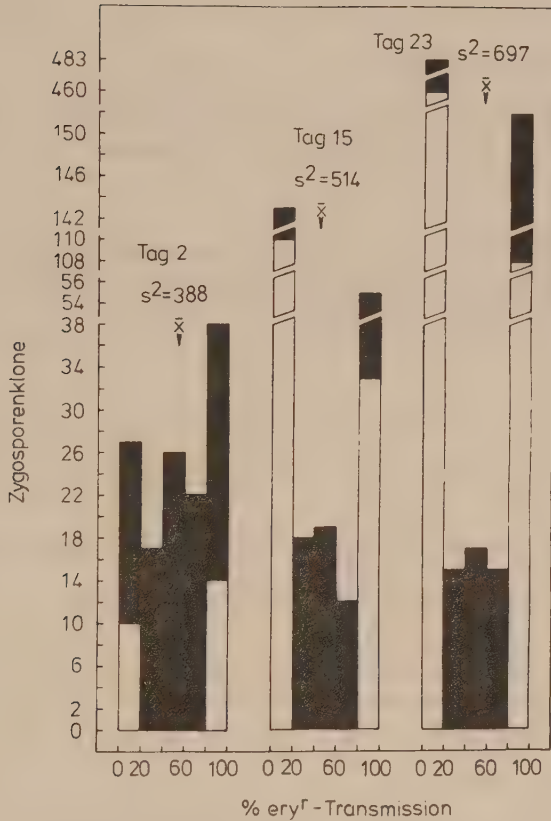


Fig. 55: Veränderung des Transmissionsmusters der in Chloroplasten-DNS lokalisierten Erythromycin-resistenz in Zygosporenklonen aus der Kreuzung der beiden *Chlamydomonas reinhardtii*-Stämme GB-104 mt⁺spr-u-1-27-3 (Sp^r) x GB-198 mt⁻sr-u-2-60 (S^r) er-u-37(E^r) in Abhängigkeit vom Alter der Zygosporen; untersucht wurden 2, 15 und 23 Tage alte biparentale Zygosporen nach Subklonieren.

Die Zygosporenklone sind in 20%-Intervallen der Transmission zusammengefaßt
(gezeichnet nach einem Experiment von B.Sears, 1980)

LITERATURVERZEICHNIS

Adoutte, A.; Belsson, J.:

Evolution of mixed populations of genetically different mitochondria in *Paramecium aurelia*.

Nature (Lond.) 235, 393-396 (1972)

Backhaus, B.:

Mitochondriale Vererbung bei *Saccharomyces cerevisiae*: Zur Transmission und Rekombination mitochondrialer Gene in Abhängigkeit von der rho-Mutation in temperatur-sensiblen Mutanten

Dissertation, Universität München (1977)

Bandlow, W.; Kaudewitz, F.:

Action of ethidium bromide on mitochondrial DNA in the petite-negative yeast *Schizosaccharomyces pombe*

Molec. gen. Genet. 131, 333-338 (1974)

Belcour, L.; Begel, O.:

Mitochondrial genes in *Podospora anserina*: recombination and linkage

Molec. gen. Genet. 153, 11-21 (1977)

Birky, C.W., Jr.:

Zygote heterogeneity and uniparental inheritance of mitochondrial genes in yeast

Molec. gen. Genet. 141, 41-58 (1975)

Birky, C.W., Jr.:

Effect of glucose repression on the transmission and recombination of mitochondrial genes in yeast (*Saccharomyces cerevisiae*)

Genetics 80, 695-709 (1975)

Birky, C.W., Jr.; Skavaril, R.V.:

Maintenance of genetic homogeneity in systems with multiple genomes

Genet. Res. (Camb.) 27, 249-265 (1976)

Birky, C.W., jr.:

Transmission genetics of mitochondria and chloroplasts (Review)

Ann. Rev. Genet. 12, 471-512 (1978)

Birky, C.W., jr.; Strausberg, R.L.; Perlman, P.S.; Forster, J.L.:

Vegetative segregation of mitochondria in yeast:
Estimating parameters using a random model

Molec. gen. Genet. 158, 251-261 (1978)

Birky, C.W., jr.; Demko, C.A.; Perlman, P.S.; Strausberg, R.L.:

Uniparental inheritance of mitochondrial genes in yeast: generality of the phenomenon, dependence on input bias of mitochondrial DNA, and preliminary investigation of the mechanism

Genetics 89, 615-651 (1978)

Birky, C.W., jr.; Thrailkill, K.M.:

Intracellular population genetics: evidence for random drift of mitochondrial gene frequencies in yeast zygotes

Genetics 91, s11 (Abstr.) (1979)

Böcker, E.; Kaudewitz, F.; Richmond, V.; Schweyen, R.J.; Thomas, D.Y.:

The effect of glucose on the number of mitochondrial genomes participating in mitochondrial crosses

In: Genetics, Biogenesis and Bioenergetics of Mitochondria; eds. W. Bandlow, R.J. Schweyen, D.Y. Thomas, K. Wolf, F. Kaudewitz
Walter de Gruyter, Berlin-New York (1976)

Bogenhagen, D.; Clayton, D.A.:

Mouse L cell mitochondrial DNA molecules are selected randomly for replication throughout the cell cycle

Cell 11, 719-727 (1977)

Bolen, P.L.; Gillham, N.W.; Boynton, J.E.:

Evidence for persistence of chloroplast markers in the heteroplasmic state in *Chlamydomonas reinhardtii*

Curr. Genetics 2, 159-167 (1980)

Borst, P.; Grivell, L.A.:

The mitochondrial genome of yeast (Review)
Cell 15, 705-723 (1978)

Bostock, C.J.:

Mitochondrial DNA in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*

Biochim. Biophys. Acta 195, 579-581 (1969)

Brunner, A.; Cobos, A.T.de; Griffith, D.E.:

The isolation and genetic characterization of extrachromosomal chloramphenicol- and oligomycin-resistant mutants from the petite negative yeast *Kluyveromyces lactis*

Molec. gen. Genet. 152, 183-191 (1977)

Bulder, C.J.E.A.:

Induction of petite mutation and inhibition of synthesis of respiratory enzymes in various yeasts

Antonie van Leeuwenhoek 30, 1-9 (1964)

Burger, G.; Wolf, K.:

Mitochondrially inherited resistance to antimycin and diuron in the petite negative yeast *Schizosaccharomyces pombe*

Molec. gen. Genet. 181, 134-139 (1981)

Callen, D.F.:

The effect of mating type on the polarity of mitochondrial gene transmission in *Saccharomyces cerevisiae*

Molec. gen. Genet. 128, 321-329 (1974)

Callen, D.F.:

Segregation of mitochondrially inherited antibiotic resistance genes in zygote cell lineages of *Saccharomyces cerevisiae*

Molec. gen. Genet. 134, 65-76 (1974)

Crow, J.F.; Kimura, M.:

An introduction to population genetics theory
Minneapolis, Burgess. (1970)

Del Giudice, L.; Wolf, K.; Seitz, G.; Burger, G.; Lang, B.; Kaudewitz, F.:

Extrachromosomal inheritance in *Schizosaccharomyces pombe*. III. Isolation and characterization of paromomycin-resistant mutants

Molec. gen. Genet. 152, 319-324 (1977)

Del Giudice, L.; Wolf, K.:

Evidence for a joint control of nuclear and mitochondrial DNA synthesis in the petite negative yeast *Schizosaccharomyces pombe*

In: Endocytobiology: Endosymbiosis and Cell Biology, a Synthesis of Recent Research; Proceedings of the International Colloquium on Endosymbiosis and Cell Research, Tübingen. eds. W. Schwemmler, H. E. A. Schenk, 779-790,

Walter de Gruyter, Berlin (1980)

Del Giudice, L.; Wolf, K.; Buono, C.; Manna, F.:

Nucleo-cytoplasmic interactions in the petite negative yeast *Schizosaccharomyces pombe*. Inhibition of nuclear and mitochondrial DNA synthesis in the absence of cytoplasmic protein synthesis

Molec. gen. Genet., im Druck

Demko, C.; Perlman, P.:

Gene dosage and bias in mitochondrial genetics

Genetics 80, s26 (1975)

Dujardin, G.; Robert, B.; Clavilier, L.:

Effect of hydroxyurea treatment on transmission and recombination of mitochondrial genes in *Saccharomyces cerevisiae*: a new method to modify the input of mitochondrial genes in crosses

Molec. gen. Genet. 160, 101-110 (1978)

Dujon, B.; Slonimski, P. P.; Weill, L.:

Mitochondrial genetics. IX. A model for recombination and segregation of mitochondrial genomes in *Saccharomyces cerevisiae*

Genetics 78, 415-437 (1974)

- Dujon, B.; Kruszevska, A.; Slonimski, P.P.; Bolotin-Fukuhara, M.; Coen, D.; Deutsch, J.; Netter, P.; Weill, L.:
Mitochondrial genetics. X. Effects of UV irradiation on transmission and recombination of mitochondrial genes in *Saccharomyces cerevisiae*
Molec. gen. Genet. 137, 29-72 (1975)
- Egel, R.; Kohli, J.; Thurlaux, P.; Wolf, K.:
Genetics of the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*
Ann. Rev. Genet., Im Druck
- Ferenczy, L.; Maráz, A.:
Transfer of mitochondria by protoplast fusion in *Saccharomyces cerevisiae*
Nature 268, 524-525 (1977)
- Forster, J.L.; Kleese, R.A.:
The segregation of mitochondrial genes in yeast. II. Analysis of zygote pedigrees of drug resistant x drug sensitive crosses
Molec. gen. Genet. 139, 341-355 (1975)
- Forster, J.L.; Grabowy, C.T.; Harris, E.H.; Boynton, J.E.; Gillham, N.W.:
Behavior of chloroplast genes during early zygotic divisions of *Chlamydomonas reinhardtii*
Current Genetics 1, 137-153 (1980)
- Fukuhara, H.; Kujawa, C.:
Selective inhibition of the in vivo transcription of mitochondrial DNA by ethidium bromide and by acriflavine
Biochem. Biophys. Res. Comm. 41, 1002-1008 (1970)
- Gillham, N.W.:
Organelle Heredity
Raven Press, New York (1978)
- Grimes, G.W.; Mahler, H.R.; Perlman, P.S.:
Nuclear gene dosage effects on mitochondrial mass and DNA
J. Cell Biol. 61, 565-574 (1974)

Grossman, L.J.; Goldring, E.S.; Marmur, J.:

Preferential synthesis of yeast mitochondrial DNA
in the absence of protein synthesis

J. Mol. Biol. 46, 367-376 (1969)

Guba, R.:

Genetische Feinstrukturanalyse der *oxi1*-Region des
mitochondrialen Genoms der Hefe *Saccharomyces*
cerevisiae

Diplomarbeit, Universität München (1980)

Hashimoto-Gotoh, T.; Timmis, K.N.:

Incompatibility properties of Col E1 and pMB1
derivative plasmids: random replication of multicopy
replicons

Cell 23, 229-238 (1981)

Hasse, M.:

Untersuchungen zur Transmission und Rekombination
mitochondrialer Genome bei der *petite*-negativen
Spaltheefe *Schizosaccharomyces pombe*

Diplomarbeit, Universität München (1979)

Käfer, E.:

The process of spontaneous recombination in vegeta-
tive nuclei of *Aspergillus nidulans*

Genetics 46, 1581-1609 (1961)

Kohli, J.:

Chromosomenkartierung bei *Schizosaccharomyces pombe*

Dissertation, Universität Bern (1976)

Kutzleb, R.; Schweyen, R.J.; Kaudewitz, F.:

Extrachromosomal inheritance of paromomycin resistance
in *Saccharomyces cerevisiae*

Molec. gen. Genet. 125, 91-98 (1973)

Leupold, U.:

Genetical methods for *Schizosaccharomyces pombe*

In: Methods in Cell Physiology 4, 169-177,

ed. D.M. Prescott, Academic Press, New York (1970)

Mahler, H.R.; Perlman, P.S.:

Mitochondriogenesis analyzed by blocks on mitochondrial translation and transcription

Biochemistry (Wash.) 10, 2979 (1971)

Matagne, R.; Hermesse, M.-P.:

Chloroplast gene inheritance studied by somatic fusion in *Chlamydomonas reinhardtii*

Curr. Genet. 1, 127-131 (1980)

Michaelis, P.:

The investigation of plasmone segregation by the pattern analysis

Nucleus 10, 1-14 (1967)

Michaelis, P.; Petrochilo, E.; Slonimski, P.P.:

Mitochondrial genetics. III. Recombined molecules of mitochondrial DNA obtained from crosses between cytoplasmic petite mutants of *Saccharomyces cerevisiae*: physical and genetic characterization

Molec. gen. Gent. 123, 51-65 (1973)

Mitchison, J.M.:

Physiological and cytological methods for *Schizosaccharomyces pombe*

In: Methods in Cell Physiology 4, 131-165, ed. D.M. Prescott, Academic Press, New York (1970)

Munz, P.; Leupold, U.:

Characterization of ICR-Induced mutations in *Schizosaccharomyces pombe*

Mut. Res. 9, 199-212 (1970)

Ohta, T.:

On the gene conversion model as a mechanism for maintenance of homogeneity in systems with multiple genomes

Genet. Res. 30, 89-91 (1977)

Perlman, P.S.; Mahler, H.R.:

Molecular consequences of ethidium bromide mutagenesis
Nature New Biol. 231, 12-16 (1971)

Perlman, T.S.; Birky, C.W., Jr.:

Mitochondrial genetics in baker's yeast: A molecular mechanism for recombinational polarity and suppressiveness

Proc. Nat. Acad. Sci. (USA) 71, 4612-4616 (1974)

Perlman, P.S.; Birky, C.W., Jr.; Demko, C.A.; Strausberg, R.L.:

Confirmations and exceptions to the phage analogy model: input bias, bud position effects, zygote heterogeneity, and uniparental inheritance

In: Genetics and Biogenesis of Chloroplasts and Mitochondria. eds. T. Bücher, W. Neupert, W. Sebald, S. Werner, 405-414, Elsevier/North Holland, Biomedical Press, Amsterdam (1976)

Perlman, P.S.; Birky, C.W., Jr.; Strausberg, R.L.:

Segregation of mitochondrial markers in yeast

In: Methods in Enzymology: Biomembranes, eds. S. Fleischer, L. Packer (1977)

Laipis, P.J.; Hauswirth, W.W.:

Variation in bovine mitochondrial DNAs between maternally related animals

In: The organization and expression of the mitochondrial genome, 12th International Bari Conference, eds. A.M. Kroon, C. Saccone, 125-130 (1980)

Putrament, A.; Baranowska, H.; Prazmo, W.:

Induction by manganese of mitochondrial antibiotic resistance mutations in yeast

Molec. gen. Genet. 126, 357-366 (1973)

Putrament, A.; Baranowska, H.; Ejchart, A.; Prazmo, W.:

Manganese mutagenesis in yeast. IV. The effects of magnesium, protein synthesis inhibitors and hydroxyurea on ant^r induction in mitochondrial DNA

Molec. gen. Genet. 140, 339-347 (1975)

Royer, H.D.; Sager, R.:

Methylation of chloroplast DNAs in the life cycle of Chlamydomonas

Proc. Nat. Acad. Sci. (USA) 76, Nr. 11, 5794-5798 (1979)

Sager, R.; Ramanis, Z.:

Persistent cytoplasmic heterozygotes in *Chlamydomonas*
Genetics 68, s56 (1971)

Sager, R.; Ramanis, Z.:

Chloroplast genetics of *Chlamydomonas*. I. Allelic
segregation ratios
Genetics 83, 303-321 (1976)

Sager, R.:

Genetic analysis of chloroplast DNA in *Chlamydomonas*
Adv. Genet. 19, 287-340 (1977)

Sager, R.:

Methylation and restriction of chloroplast DNA: The
molecular basis of maternal inheritance in
Chlamydomonas

In: ICN-UCLA Symposia on Molecular and Cellular
Biology 15, Extrachromosomal DNA
eds. D.J. Cummings, P. Borst, J.B. Dawid, S.M. Weissman,
C.F. Fox, Academic Press, New York (1979)

Schwab, R.; Sebald, M.; Kaudwitz, F.:

Influence of ethidium bromide on respiration in
Schizosaccharomyces pombe

Molec. gen. Genet. 110, 361-366 (1971)

Sears, B.B.; Boynton, J.E.; Gillham, N.W.:

The effect of increasing zygote age on the trans-
mission of chloroplast genes in the green alga
Chlamydomonas reinhardtii

Genetics 86, s56-s57 (1977)

Sears, B.B.; Boynton, J.E.; Gillham, N.W.:

The effect of gametogenesis regimes on the trans-
mission of chloroplast genes in the green alga
Chlamydomonas reinhardtii

Genetics 88, s89-s90 (1978)

Sears, B.B.:

Disappearance of the heteroplasmic state for chloroplast markers in zygospores of *Chlamydomonas reinhardtii*

Plasmid 3, 18-34 (1980)

Sears, B.B.:

Changes in chloroplast genome composition and recombination during the maturation of zygospores of *Chlamydomonas reinhardtii*

Curr. Genet. 2, 1-8 (1980)

Seitz, G.:

Untersuchungen zur Segregation, Transmission und Rekombination extrachromosomal vererbter Antibiotika-Resistenzmarker bei der Spalthefe *Schizosaccharomyces pombe* L.

Dissertation, Universität München (1977)

Seitz-Mayr, G.; Wolf, K.; Kaudewitz, F.:

Extrachromosomal inheritance in *Schizosaccharomyces pombe*. VII. Studies by zygote clone analysis on transmission, segregation, recombination, and uniparental inheritance of mitochondrial markers conferring resistance to antimycin, chloramphenicol, and erythromycin

Molec. gen. Genet. 164, 309-320 (1978)

Sena, E.P.; Welch, J.W.; Halvorson, H.O.; Fogel, S.:

Nuclear and mitochondrial deoxyribonucleic acid replication during mitosis in *Saccharomyces cerevisiae*

J. Bact. 123, 497-504 (1975)

Sena, E.; Welch, J.; Fogel, S.:

Nuclear and mitochondrial DNA replication during zygote formation and maturation in yeast

Science 194, 433-435 (1976)

Shanfield, B.; Käfer, E.:

Chemical induction of mitotic recombination in *Aspergillus nidulans*

Genetics 67 (2), 209-219 (1971)

Sipiczki, M.; Ferenczy, L.:

Protoplast fusion of *Schizosaccharomyces pombe*
auxotrophic mutants of identical mating type

Molec. gen. Genet. 151, 77-81 (1977)

Slonimski, P.P.; Perrodin, G.; Croft, J.:

Ethidium bromide induced mutation of yeast mitochondria:
complete transformation of cells into respiratory
deficient non-chromosomal "petites"

Biochem. Biophys. Res. Comm. 30, 232-239 (1968)

Stahl, U.:

Zygote formation and recombination between like
mating types in the yeast *Saccharomyces lipolytica*
by protoplast fusion

Molec. gen. Genet. 160, 111-113 (1978)

Stevens, B.J.:

Variation in mitochondrial numbers and volume in
yeast according to growth conditions

J. Cell Biol. 63, 336a (Abst.) (1974)

Strausberg, R.L.; Perlman, P.S.:

The effect of zygotic bud position on the trans-
mission of mitochondrial genes in *Saccharomyces*
cerevisiae

Molec. gen. Genet. 163, 131-144 (1978)

Strausberg, S.L.; Birky, C.W., Jr.:

Recombination of yeast mitochondrial DNA does not
require mitochondrial protein synthesis

Curr. Genet. 1, 21-31 (1979)

Svoboda, A.:

Fusion of yeast protoplasts induced by polyethylene
glycol

J. of Gen. Microbiol. 109, 169-175 (1978)

Tabak, H.F.; Weijers, P.F.:

The genetic complexity of *Schizosaccharomyces pombe*
mitochondrial DNA

FEBS Letters 69, 211-215 (1976)

Tilney-Bassett, R.A.E.:

The control of plastid inheritance in *Pelargonium*
Genet. Res. Camb. 16, 49-61 (1970)

Treat, L.G.:

Population studies of the vegetative segregation
of mitochondrial genes in baker's yeast
Dissertation, Ohio State University (1978)

Ursprung, H.; Schabtach, E.:

Fertilization in tunicates: Loss of the paternal
mitochondrion prior to sperm entry
J. Exp. Zool. 159, 379-384 (1965)

Van Winkle-Swift, K.P.:

Maturation of algal zygotes: alternative experimental
approaches for *Chlamydomonas reinhardtii*
(Chlorophyceae)
J. Physiol. 13, 225-231 (1977)

Van Winkle-Swift, K.P.:

Uniparental inheritance is promoted by delayed
division of the zygote in *Chlamydomonas*
Nature 275, 749-751 (1978)

Van Winkle-Swift, K.P.; Birky, C.W., Jr.:

The non-reciprocity of organelle gene recombination
in *Chlamydomonas reinhardtii* and *Saccharomyces*
cerevisiae
Genetics 86, s67 (Abst.) (1977)

Van Winkle-Swift, K.P.; Birky, C.W., Jr.:

The non-reciprocity of organelle gene recombination
in *Chlamydomonas reinhardtii* and *Saccharomyces*
cerevisiae. Some new observations and a restatement
of some old problems
Molec. gen. Genet. 166, 193-209 (1978)

Van Winkle-Swift, K.P.:

A model for the rapid vegetative segregation of
multiple chloroplast genomes in *Chlamydomonas*:
Assumptions and predictions of the model
Curr. Genet. 1, 113-125 (1980)

Visconti, N.; Delbrück, M.:

The mechanism of genetic recombination in phage
Genetics 38, 5-35 (1953)

Williamson, D.H.; Fennell, D.J.:

Apparent dispersive replication of yeast mitochondrial
DNA as revealed by density labelling experiments
Molec. gen. Genet. 131, 193-207 (1974)

Williamson, D.H.:

Packaging and recombination of mitochondrial DNA
In vegetatively growing yeast cells

In: Genetics, Biogenesis, and Bioenergetics of
Mitochondria. Proceedings of a Symposium held at
the Genetisches Institut der Universität München,
eds. W. Bandlow, R.J. Schweyen, D.Y. Thomas, K. Wolf,
F. Kaudewitz, pp. 117
Walter de Gruyter, Berlin-New York (1976)

Williamson, D.H.; Johnston, L.H.; Richmond, K.M.V. Game, J.C.:

Mitochondrial DNA and the heritable unit of the
yeast mitochondrial genome: a review

In: Mitochondria 1977. Genetics and Biogenesis of
Mitochondria. Proceedings of a Colloquium held at
Schliersee; eds. W. Bandlow, R.J. Schweyen, K. Wolf,
F. Kaudewitz, pp. 1
Walter de Gruyter, Berlin-New York (1977)

Wolf, K.; Dujon, B.; Slonimski, P.P.:

Mitochondrial Genetics. V. Multifactorial mito-
chondrial crosses involving a mutation conferring
Paromomycin-resistance in *Saccharomyces cerevisiae*
Molec. gen. Genet. 125, 53-90 (1973)

Wolf, K.; Seitz, G.; Lang, B.; Burger, G.; Kaudewitz, F.:

Extrachromosomal inheritance of drug resistance and
respiratory deficiency in the fission yeast *Schizo-*
saccharomyces pombe

In: Genetics, Biogenesis, and Bioenergetics of
Mitochondria. eds. W. Bandlow, R.J. Schweyen, D.Y. Thomas,
K. Wolf, F. Kaudewitz, pp. 23-37
Walter de Gruyter, Berlin-New York (1976)

Wolf, K.; Kaudewitz, F.:

Extrachromosomal inheritance in *Schizosaccharomyces pombe*. V. On a possible correlation between bias in transmission, spontaneous mit⁻production, and formation of uniparental zygotic clones

In: Mitochondria 1977. eds. W. Bandlow, R. J. Schweyen, K. Wolf, F. Kaudewitz, pp. 65

Walter de Gruyter, Berlin-New York (1977)

Wolf, K.; Seitz-Mayr, G.; Kaudewitz, F.:

Extrachromosomal inheritance in *Schizosaccharomyces pombe*. VIII. Extent of cytoplasmic mixing in zygotes estimated by tetrad analysis of crosses involving mitochondrial markers conferring resistance to antimycin, chloramphenicol, and erythromycin

Molec. gen. Genet. 164, 321-329 (1978)

Wolf, K.; Del Giudice, L.; Kaudewitz, F.:

Promotion of uniparental inheritance of mitochondrial drug resistance by delayed division of yeast zygotes

Molec. gen. Genet. 176, 301-302 (1979)

Wolf, K.; Del Giudice, L.:

Transmission and recombination of mitochondrial genomes in random diploid populations and individual zygote clones in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*

Microbial Genetics Bulletin 47, 1-4 (1979)

Wolf, K.; Del Giudice, L.:

Effect of ethidium bromide on transmission of mitochondrial genomes and DNA synthesis in the petite negative yeast *Schizosaccharomyces pombe*

Curr. Genet. 1, 193-197 (1980)

Wolf, K.; Anziano, P.; Lang, B.; Perlman, P. S.:

The physical map of the mitochondrial genome of the petite-negative yeast *Schizosaccharomyces pombe*

In: 12th International Bari Conference on Mitochondria, held at University of Bari. The Organization and Expression of the Mitochondrial Genome (Abstr.), p. 73 (1980)

Teilbereiche aus dem hier behandelten Themenkreis
"Mitochondriale Transmissionsgenetik bei *Schizosaccharo-*
myces pombe" wurden bereits veröffentlicht:

Wolf, K.; Seltz, G.; Lückemann, G.; Lang, B.; Burger, G.;
Bandlow, W.; Kaudewitz, F.:

Extrachromosomal inheritance in a petite-negative
yeast, *Schizosaccharomyces pombe*

In: Genetics and Biogenesis of Chloroplasts and
Mitochondria. eds. Th. Bücher et al.; North-Holland
Biomedical Press, Amsterdam, The Netherlands,
497-501 (1976)

Seltz, G.; Lückemann, G.; Wolf, K.; Kaudewitz, F.;
Boutry, M.; Goffeau, A.:

Extrachromosomal inheritance in *Schizosaccharomyces*
pombe. IV. Preliminary genetic and biochemical
characterization of mitochondrially inherited
respiratory-deficient mutants.

In: Mitochondria 1977. eds. W. Bandlow, R. J. Schweyen,
K. Wolf, F. Kaudewitz, Walter de Gruyter, Berlin-
New York; 149-160 (1977)

Wolf, K.; Lückemann, G.; Sipiczki, M.:

Transmission and recombination of mitochondrial
genomes in zygote clones and protoplast fusion
clones in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*
Microbial Genetics Bulletin 47, 4-6 (1979)

Lückemann, G.; Sipiczki, M.; Wolf, K.:

Transmission, segregation, and recombination of
mitochondrial genomes in zygote clones and protoplast
fusion clones in yeast

Molec. gen. Genet. 177, 185-187 (1979)

Thrallkill, K.; Birky, C. W., Jr.; Lückemann, G.; Wolf, K.:

Intracellular population genetics: evidence for
random drift of mitochondrial allele frequencies
in *Saccharomyces cerevisiae* and *Schizosaccharomyces*
pombe

Genetics 96, 237-262 (1980)

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von 1977 bis 1981 am Genetischen Institut der Universität München unter Anleitung von Herrn Prof. Dr. F. Kaudewitz durchgeführt.

Am Ende dieser Arbeit möchte ich allen danken, die zu ihrer Entstehung beigetragen haben.
Mein Dank gilt besonders Herrn Prof. Dr. F. Kaudewitz für die Bereitstellung eines Laborplatzes mit guten Arbeitsmöglichkeiten, für seine Anleitung und Förderung, sowie Herrn Dr. K. Wolf für die wertvollen Ratschläge und Diskussionen bei der Betreuung dieser Arbeit.
Allen Mitarbeitern im Institut danke ich für Ihre Anregungen und Hilfsbereitschaft.

LEBENS LAUF

Gudrun Lückemann, geb. Unger

- Geboren: 8. Juli 1952 In Weng, Kreis Freising
- Eltern: Friedrich Unger, Techn. Angestellter
Ingeborg Unger, geb. Schneider, Buchhalterin
- Schule: 1958-1964 Volksschule Neufahrn
1964-1971 Camerloher Gymnasium (Musisches
Gymnasium) Freising
mit Abschluß Abitur
- Studium: 1971-1977 an der Ludwig-Maximilians-Uni-
versität München mit Abschluß
Diplom-Hauptprüfung in Biologie
seit 1977 Doktorarbeit am Genetischen
Institut der Universität München
- Verheiratet: seit 1975 mit Walther Lückemann,
Dipl. Mathematiker

